Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

UNTER MITWIRKUNG VON

J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH, **H. v. GUTTENBERG**-ROSTOCK
R. HARDER-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

W. RUHLAND UNTERDEUFSTETTEN — **L. BRAUNER** MÜNCHEN — **E. BÜNNING** TÜBINGEN

49. BAND, 4. HEFT

MIT 44 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 5. JULI 1957)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1957

Planta (Berl.)

Preis DM 20.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E). Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*.

Die Zeitschrift **„Planta"**, Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Wilhelm Ruhland, (14a) *Unterdeufstetten über Crailsheim*, oder an *Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Inst. der Universität.*

Springer-Verlag

Berlin W 35, Reichpietschufer 20, Fernsprecher 249251

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 27901

---

49. Band **Inhaltsverzeichnis** 4. Heft

Franke, W., Der Vitamin C-Gehalt von Pflanzen in Abhängigkeit von der Temperatur und das Verhältnis Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure unter besonderer Berücksichtigung gelagerter Kartoffeln. Mit 12 Textabbildungen 345

Mohr, H., Der Einfluß monochromatischer Strahlung auf das Längenwachstum des Hypocotyls und auf die Anthocyanbildung bei Keimlingen von Sinapis alba L. (= Brassica alba Boiss.). Mit 6 Textabbildungen 389

Reznik, H., Die Pigmente der Centrospermen als systematisches Element. II. Untersuchungen über das ionophoretische Verhalten. Mit 10 Textabbildungen 406

Kessler, E., Stoffwechselphysiologische Untersuchungen an Hydrogenase enthaltenden Grünalgen. I. Über die Rolle des Mangans bei Photoreduktion und Photosynthese. Mit 16 Textabbildungen 435

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, Bd. 49, S. 345—388 (1957)

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn a. Rh.

DER VITAMIN C-GEHALT VON PFLANZEN IN ABHÄNGIGKEIT VON DER TEMPERATUR UND DAS VERHÄLTNIS ASCORBINSÄURE ZU DEHYDROASCORBINSÄURE UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG GELAGERTER KARTOFFELN*

Von

WOLFGANG FRANKE

Mit 12 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. März 1957)

Einleitung

Seit der Entdeckung des Vitamins C im Jahre 1933 ist das Interesse der einschlägigen Wissenschaften vornehmlich auf das Vorkommen und die Bedeutung des Vitamins bei Mensch, Tieren und Pflanzen gerichtet. Da der Mensch, abgesehen von den ersten Monaten des Säuglingsdaseins, auf die Zufuhr des Vitamins mit der Nahrung angewiesen ist, hat sich insbesondere die Ernährungsphysiologie dieses Forschungsgebietes angenommen. Aber auch die physiologische Botanik hat sich um die Aufklärung dieses Stoffes bemüht, weil die Pflanzen die Hauptlieferanten des Vitamins C sind. Aus der Erforschung des Vorkommens und der Quantität in den Organen ist jedoch bald die Frage erwachsen, wo und wie das Vitamin in den Pflanzen gebildet wird und ob es auch für die erzeugende Pflanze selbst eine Bedeutung hat. Diesen Fragenkomplex dürfen wir schlechthin als das Vitamin-C-Problem in der Botanik bezeichnen. Denn es hat sich herausgestellt, daß fast alle Pflanzen, selbst Farne, Moose und Algen das Vitamin z. T. in sehr großen Mengen zu bilden vermögen (vgl. z. B. SEYBOLD und MEHNER 1948 sowie CREAC'H und BARAUD 1954).

Experimentelle Untersuchungen über Lokalisation und Chemismus der Vitamin-C-Bildung führten allmählich zu einer teilweisen Aufklärung des Problems. Zum einen konnte nämlich festgestellt werden, daß den Pflanzen applizierte Glucose und andere Hexosen, wie z. B. Galactose, eine Steigerung des Vitamin-C-Gehaltes bewirkten. Zum anderen zeigte sich, daß Atmungssteigerungen gleichermaßen mit einem Anstieg des Vitamin-C-Gehaltes verbunden sein können. Als Resultat vieler Einzelarbeiten ergibt sich nun, daß die Vitamin C-Bildung ein mit

* Habilitationsschrift der Landwirtschaftlichen Fakultät der Universität Bonn.

dem chemischen Atmungsgeschehen verknüpfter Vorgang ist, bei dem Glucose und andere Hexosen unter Sauerstoffverbrauch zum Vitamin C umgewandelt werden. Biochemische Untersuchungen z. T. unter Anwendung der Tracertechnik (MAPSON und ISHERWOOD 1955, weitere Literatur s. FRANKE 1955b) machen es heute sehr wahrscheinlich, daß D-Glucose und D-Galactose unter Umwandlung in die L-Struktur durch Inversion des Moleküls um 180° über Glucuronsäure und L-Gulonsäure direkt, d. h. ohne Fragmentierung der 6-C-Kette, in die L-Ascorbinsäure übergehen.

Die Vorstellungen anderer Forscher (z. B. SMITH 1952), daß die Vitamin-C-Bildung unter Zerbrechen der 6-C-Kette und Rekombination zweier 3-C-Moleküle erfolge, haben nach neuesten Ergebnissen (BURNS und Mitarb. 1955) stark an Boden verloren.

Das erste Produkt der Vitamin-C-Bildung ist die L-Ascorbinsäure, die oft dem Vitamin C zu Unrecht gleichgesetzt wird, denn die Ascorbinsäure ist eine leicht oxydierbare Verbindung und geht rasch in die Dehydroascorbinsäure über. Da das Vitamin C als antiskorbutisches Vitamin bezeichnet wird und sowohl Ascorbinsäure als auch Dehydroascorbinsäure antiskorbutisch wirksam sind, umfaßt der Begriff Vitamin C daher die Summe aus Ascorbinsäure *und* Dehydroascorbinsäure.

Als ein mit der Atmung verknüpfter Vorgang kann die Vitamin-C-Bildung praktisch in allen Organen erfolgen, und die noch ungeklärte Vorstellung eines Vitamin-C-Transportes in der Pflanze muß nicht unbedingt Geltung haben. Voraussetzung für die Vitamin-C-Bildung ist jedoch eine genügende Menge an Bildungsstoffen, also Zuckern, die teils aus Reservekohlenhydraten z. B. in Knollen, Wurzeln und Samen stammen können, teils als Assimilationsprodukte zur Verfügung stehen. Aus der Tatsache, daß auch chlorophyllfreie Organe der Pflanzen Vitamin C zu bilden vermögen, ist zu folgern, daß die Vitamin-C-Bildung nicht primär mit der Photosynthese verknüpft sein muß. Die nicht zu leugnenden Beziehungen der Vitamin-C-Bildung zur Photosynthese und Relationen zwischen Vitamin-C-Gehalt und Chlorophyllmenge können eben in der Bereitstellung von Atmungsmaterial für die Synthese ihre Erklärung finden (FRANKE 1955b).

Neben der Biochemie ist die Physiologie der Bildung und des Abbaues des Vitamins C ein weiteres Kapitel des Vitamin-C-Problems. Die Vitamin-C-Bildung wird von mehreren Faktoren, die die Bereitstellung der Vorstufen, und damit die Photosynthese erhöhen und eine Steigerung der Atmungsintensität bewirken, also Licht, O_2- und CO_2-Partialdruck sowie Temperatur gefördert. Das Studium dieser Faktoren hat jedoch noch nicht in allen Fällen zu allgemein gültigen Ergebnissen geführt. Denn die Synthese des Vitamins C ist zu allen Zeiten von einem Abbau begleitet, so daß der jeweils ermittelte Vitamin-C-Gehalt als das Ergebnis

eines dynamischen Gleichgewichtes zwischen den aufbauenden und abbauenden Vorgängen zu verstehen ist. Ein Absinken des Vitamin-C-Gehaltes lassen z. B. Untersuchungen über die Lagerung von Obst und Gemüsen erkennen (PETT 1936, OLLIVER 1936, LUNDE 1940, FELLENBERG und WUHRMANN 1942, PAECH 1939b, BARKER und MAPSON 1950). Das Ausmaß des Verlustes ist dabei um so größer, je höher die Lagertemperatur ist. Das Vitamin C kann demnach nicht ein Endprodukt des Stoffwechselgeschehens sein, sondern dürfte ein Zwischenprodukt darstellen, das offensichtlich vom Organismus verwendet werden kann, vielleicht als Energielieferant, vielleicht auch als Funktionsträger.

Aus der Tatsache des Absinkens des Vitamin-C-Gehaltes läßt sich nun ableiten, daß die Größe dieses Gehaltes je nach dem Ausmaß an Neubildung und Abbau bzw. Verbrauch innerhalb gewisser wohl genetisch festgelegter Grenzen schwanken kann. Für die Frage nach den Ursachen dieser Schwankungen ist es mithin entscheidend, zu wissen, welche Faktoren Bildung und Abbau beeinflussen. FRANKE (1955b) hatte diese Frage in bezug auf den Temperaturfaktor bereits angeschnitten und aus Angaben in der Literatur sowie aus eigenen Versuchen den Schluß gezogen, daß tiefere Temperaturen einen größeren Vitamin-C-Gehalt zur Folge haben müssen als höhere.

In der vorliegenden Mitteilung wird über Versuchsergebnisse berichtet werden, die diese Überlegung rechtfertigen.

Ein letztes Kapitel des Vitamin-C-Problems ist schließlich die Frage nach der Funktion des Vitamins im Erzeuger selbst, nämlich in der Pflanze. Von anderen Vitaminen ist bekannt, daß sie am Stoffwechsel der Pflanzen funktionell beteiligt sind. Zahlreiche Arbeiten suchten das auch für das Vitamin C zu beweisen. Wie MAPSON (1953) in einem ausführlichen Referat dargelegt hat, sind alle diesbezüglichen Versuche nur in vitro durchgeführt worden. Für den Nachweis in vivo aber ist nach unserer Ansicht zu beachten, daß das Vitamin C nicht nur die Ascorbinsäure, sondern auch die Dehydroascorbinsäure umfaßt. Insbesondere ist das Verhältnis der beiden Vitamin-C-Komponenten zueinander bisher etwa als Quotient Ascorbinsäure:Dehydroascorbinsäure kaum berücksichtigt worden. KURC (1950 u. 1953) wies zwar nach, daß bei physiologisch aktiven Organen dieser Quotient höher ist als bei ruhenden, doch sind seine Arbeiten offensichtlich unbeachtet geblieben. Sofern nämlich das Vitamin C als ein Redox-System am Stoffwechsel beteiligt wäre, sollte der Ascorbinsäureanteil zumindest zeitweilig relativ höher sein, d. h. der Quotient Ascorbinsäure:Dehydroascorbinsäure müßte variieren. An Hand eines solchen Wechsels des Quotienten hat FRANKE (1957) umgekehrt bei Versuchen an Kartoffeln den Nachweis geführt, daß Dehydroascorbinsäure tatsächlich in Pflanzen vorkommt, was bisher bezweifelt oder als quantitativ unerheblich außer

Acht gelassen worden war. Denn wenn der bei der Bestimmung festgestellte Dehydroascorbinsäureanteil lediglich während der Aufarbeitung infolge Oxydation der Ascorbinsäure, also durch die Bestimmungsmethode entstünde, müßte — gleiche Methodik bei allen Versuchen am gleichen Objekt vorausgesetzt — der Quotient stets der gleiche sein. Dies ist jedoch nicht immer der Fall.

Die nachfolgenden Ausführungen sollen daher auch die Frage behandeln, ob aus dem Verhältnis Ascorbinsäure:Dehydroascorbinsäure Schlüsse auf eine etwaige Funktion des Vitamins C in vivo gezogen werden können.

A. Die Abhängigkeit des Vitamin-C-Gehaltes von der Temperatur

I. Vorbemerkungen

Im folgenden werden der Gesamt-Vitamin-C-Gehalt mit VC, seine beiden Komponenten Ascorbinsäure und Dehydroascorbinsäure mit AS und DAS sowie das Frischgewicht mit FG und das Trockengewicht mit TG abgekürzt.

II. Problemstellung

In der Literatur werden mehrere Angaben darüber gemacht, daß der VC-Gehalt bei tieferen Temperaturen größer sei als bei höheren. So berichtet NEUBAUER (1939), daß Eibennadeln im Winter mehr AS enthalten als im Sommer. ÅBERG (1949) fand in abgeschnittenen Tomatenblättern, die im Dunklen einige Tage auf Wasser schwammen, mit absinkender Temperatur steigende AS-Gehalte. BARKER und MAPSON (1950) geben an, daß kühl gelagerte Kartoffeln wenigstens im ersten Monat nach der Ernte eine Zunahme des AS-Gehaltes aufweisen gegenüber wärmer gelagerten. SREENIVASAN und WANDREKAR (1950) beobachteten bei Bohnenkeimlingen, die vor der Keimung im Licht bei $+5^0$ C gelagert worden waren, eine stark erhöhte VC-Bildung gegenüber der Kontrolle bei Zimmertemperatur. Auch MEDAWARA (1950) führt einen Befund an, bei dem die höchsten Werte des VC-Gehaltes von Spinatpflanzen im November und Dezember bei Temperaturen knapp über 0^0 C, ja selbst bei Temperaturen unter Null registriert wurden. LONA und GIOVANOLA (1952) weiterhin stellten fest, daß bei Blättern von *Nicotiana tabacum*, *Solanum tuberosum* und anderen Solanaceen die Erhöhung der Nachttemperaturen (zwischen 12 und 28^0 C) den AS-Gehalt vermindert. FRANKE (1955b) schließlich ermittelte bei Blättern von *Sambucus nigra* einen um so höheren VC-Gehalt, je kühler die Zweige in verdunkelten Räumen gehalten wurden.

Bei der theoretischen Analyse dieser Ergebnisse geht unsere Überlegung nun davon aus, daß höhere Temperaturen zwar die VC-Bildung als Folge des lebhafteren Stoffwechsels, hier also insbesondere der Atmung, steigern, daß aber der Vorgang des VC-Abbaues gegenüber

niedrigeren Temperaturen noch stärker erhöht wird. Umgekehrt sollte sich der VC-Abbau relativ stärker verlangsamen als die VC-Bildung, wenn die Temperatur sinkt. Mit anderen Worten: Die Temperaturkoeffizienten für VC-Bildung und VC-Abbau sollten verschieden sein. Für die VC-Bildung ist, wie schon in der Einleitung betont wurde, die Atmungsintensität wichtig, genauer gesagt die Intensität einer bestimmten Atmung (Franke 1955b), die eben auch Verbindungen entstehen läßt, die zu VC umgewandelt werden können (vgl. Paech 1955). Dabei ist auch die Menge des verfügbaren Atmungsmaterials von Bedeutung. Was die Temperaturabhängigkeit der Atmung betrifft, so ist nach der van't Hoffschen Regel ganz allgemein eine um so geringere Intensität zu erwarten, je niedrigere Temperaturen einwirken. Ganz so einfach liegen die Verhältnisse jedoch nicht, da neben der Atmung auch andere Vorgänge beeinflußt werden (Paech 1939a). So ist bekannt, daß bei Temperaturen unter $+10^0$ C bei Kartoffelknollen und anderen pflanzlichen Organen die Stärkehydrolyse beschleunigt wird und eine Zuckeranreicherung zu beobachten ist. Damit erhöht sich freilich auch die Menge des direkt verfügbaren Atmungsmaterials, so daß u. U. wiederum die Atmungsintensität relativ gesteigert werden könnte. Trotz dieser Einschränkung darf aber als gesichert betrachtet werden, daß mit sinkender Temperatur die Atmungsintensität und damit in gewissen Grenzen auch der Vorgang der VC-Bildung vermindert wird.

Wenn nun der Temperaturkoeffizient (Q_{10}-Wert) des VC-Abbaus der gleiche wäre wie der des Aufbaues, so müßte der VC-Gehalt eines Organes bei allen Temperaturen innerhalb der physiologischen Grenzen derselbe bleiben, vorausgesetzt, daß alle übrigen Bedingungen die gleichen sind. Sollte aber der Temperaturkoeffizient des VC-Abbaues größer sein, d. h. sollte sich der VC-Abbau mit steigender Temperatur stärker beschleunigen und umgekehrt mit sinkender Temperatur stärker verlangsamen als die VC-Bildung, wie aus den bisherigen Befunden zu schließen ist, so müßte sich bei Einwirkung tieferer Temperaturen als Resultante der beiden im Wechselspiel stehenden Vorgänge ein größerer VC-Gehalt ergeben als bei höheren Temperaturen. Auf diese Überlegung hat schon Paech (1939b) hingewiesen, ohne allerdings das Problem experimentell zu klären.

In Anwendung dieser Hypothese auf den von uns in früheren Versuchen beobachteten Vorgang der gesteigerten VC-Bildung bei Gewebeschnitten von Kartoffelknollen als Folge der Verletzung (Franke 1954) würde daher zu erwarten sein, daß der maximale VC-Wert, der bei 25^0 C nach etwa 48 Std erreicht wird, bei einer tieferen Temperatur nach einer freilich entsprechend längeren Zeit überschritten wird. Demgemäße Versuche werden im folgenden beschrieben.

III. Versuche

1. Gewebeschnitte an Kartoffelknollen

a) Methodik. Knollen der Kartoffelsorte Bona-Hochzucht 1954 und Bona-Nachbau 1955 wurden dünn geschält und mit einem nichtrostenden Gurkenhobel in Scheiben von 1,6 mm Dicke geschnitten, wobei Krone und Nabel der Knollen verworfen wurden. Die Scheiben jeweils einer Knolle wurden in Petrischalen auf befeuchtetes Papier gelegt und im Dunklen in Thermostaten teils bei 25 ± 0,2° C, teils bei 15 ± 0,5° C, teils in einem Kühlschrank bei 7,5 ± 0,5° C aufbewahrt. In Abständen von einigen Stunden bzw. Tagen wurden verschieden temperierte Proben auf ihren AS- und VC-Gehalt geprüft. Die Bestimmung erfolgte titrimetrisch

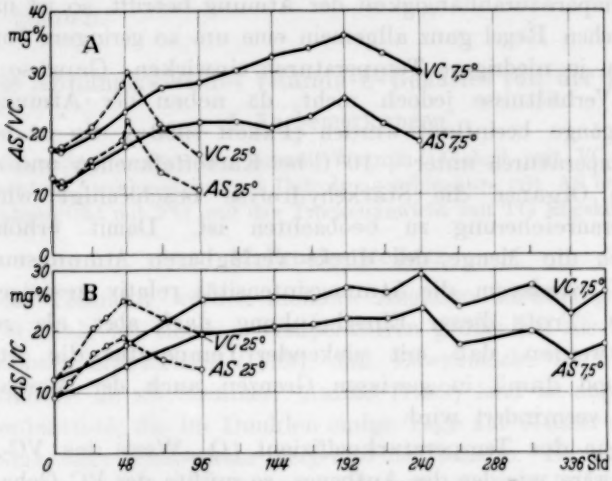

Abb. 1 A u. B. Veränderung des AS- und VC-Gehaltes in Kartoffelgewebeschnitten (Sorte Bona-Hochzucht) aus je einer Knolle (A und B) bei 7,5° und 25° C

mit Dichlorphenolindophenol nach der TEE-Methode (FRANKE 1955a). Die Werte wurden auf das FG der Scheiben in der Stunde 0 bezogen und mit mg-% bezeichnet, d. h. mg AS pro 100 g FG.

b) Versuchsergebnisse. Entsprechend den früheren Erfahrungen steigt der AS- und der VC-Gehalt nach dem Zerschneiden der Knollen in den bei 25° C gehaltenen Scheiben rasch an, und der VC-Gehalt erreicht nach etwa 48 Std ein Maximum, das bei der Sorte Bona-Hochzucht etwa 200% des Ausgangswertes beträgt, also eine Zunahme um 100% darstellt (Abb. 1 A und B, Tabelle 1 A, Spalte e und f). Aus Tabelle 1 A, Spalte f und g geht weiterhin hervor, daß das Vermögen zur VC-Bildung in den Gewebeschnitten je nach Lagerungsdauer bis zum März etwa ansteigt, dann aber wieder abfällt. Dasselbe Ergebnis war schon in den Versuchen von FRANKE (1954) in der Tabelle 4, Spalte e und f zum Ausdruck gekommen.

Bei den bei 7,5° C gehaltenen Gewebeschnitten dagegen wird der maximale AS- bzw. VC-Wert erst nach 8—10 Tagen erreicht (Abb. 1 A und B). Beim Vergleich der Tabellen 1 A und B, Spalte b—f, ist nun

Tabelle 1. *VC-Gehalte gelagerter Kartoffeln der Sorte Bona-Hochzucht und von Gewebeschnitten daraus nach 2 bzw. 8—10 Tagen bei 25 bzw. 7,5° C*

a	b	c	d	e	f	g
Tag der Analyse	VC-Gehalt der unverletzten Knolle (Nullwert)	max. VC-Gehalt nach 48 Std 25° C	max. VC-Gehalt nach 8—10 Tagen 7,5° C	Zunahme gegenüber Nullwert	Zunahme gegenüber Nullwert Prozent der Nullwerte	Lagerdauer in Monaten
	mg-%	mg-%	mg-%	mg-%	%	
			A. Bei 25° C			
5. 10.	16,11	29,40		13,29	82,4	0,5
11. 10.	17,41	30,16		12,75	72,2	0,9
18. 10.	15,52	30,72		15,20	97,7	1
2. 11.	14,81	31,93		17,12	115,6	1,5
1. 3.	12,41	29,46		17,05	137,4	5,5
3. 5.	12,10	24,95		12,85	106,2	7,5
Mittelwerte	14,72	29,43		14,71	101,91	
			B. Bei 7,5° C			
11. 10.	17,41		35,71	18,30	105,11	0,9
18. 10.	15,52		36,11	20,59	132,66	1
2. 11.	14,81		36,08	21,27	143,61	1,5
1. 3.	12,41		29,13	16,72	134,73	5,5
3. 5.	12,10		29,30	17,20	142,14	7,5
Mittelwerte	14,45		33,28	18,83	131,65	

zu erkennen, daß in der Tat bei der niedrigeren Temperatur von 7,5° C höhere maximale VC-Werte auftreten als bei 25° C. Denn die Zunahme gegenüber dem Wert bei Beginn in der Stunde 0 (Nullwert) in Prozent des Nullwertes beträgt etwa 130% bei 7,5° C gegenüber rund 100% bei 25° C. Das bedeutet also eine Differenz von 30%.

Wiederholungsversuche mit der Sorte Bona-Nachbau 1955 zeigen das gleiche Ergebnis, wenn auch die Werte zahlenmäßig geringer sind, was mit SCHEUNERT und Mitarb. (1940) auf saisonbedingte Unterschiede in der Ernährung und Entwicklung der Kartoffelpflanzen, vielleicht auch auf Abbauvorgänge zurückzuführen sein mag. Aber auch hier beträgt die Zunahme des VC-Gehaltes bei 7,5° C über 130% gegenüber nur durchschnittlich 85% bei 25° C (Tabelle 2 A und C, Spalte f und g).

Noch deutlicher wird der Tatbestand, daß die VC-Gehalte der Kartoffelgewebeschnitte bei tieferen Temperaturen größer sind als bei höheren, aus der Gegenüberstellung der maximalen VC-Gehalte bei 7,5 und 25° C (Tabelle 3, Spalte b und c) und aus der Darstellung der Differenzbeträge in Prozent der maximalen VC-Werte bei 25° C (Tabelle 3, Spalte d—e). Die Erhöhung des VC-Gehaltes der kühl gehaltenen Gewebeschnitte gegenüber dem der warm gehaltenen um etwa 5 mg-% bzw. die Differenz von rund 17% — abgesehen von dem abweichenden

Tabelle 2. *VC-Gehalte gelagerter Kartoffeln der Sorte Bona-Nachbau und von Gewebeschnitten daraus nach 2 bzw. 5—6 bzw. 8—10 Tagen bei 25 bzw. 15 bzw. 7,5° C*

a	b	c	d	e	f	g	h
Tag der Analyse	VC-Gehalt der unverletzten Knolle (Nullwert)	max. VC-Gehalt nach 48 Std 25° C	max. VC-Gehalt nach 5—6 Tagen 15° C	max. VC-Gehalt nach 8—10 Tagen 7,5° C	Zunahme gegenüber Nullwert Prozent der Nullwerte	Zunahme gegenüber Nullwert Prozent der Nullwerte	Lagerdauer in Monaten
	mg-%	mg-%	mg-%	mg-%	mg-%	%	
			A. Bei 25° C				
30. 1.	12,90	23,76			10,86	83,41	4,5
13. 2.	13,67	23,53			9,86	71,12	5
27. 2.	13,14	23,63			10,49	79,83	5,4
5. 3.	12,42	24,13			11,71	94,28	5,5
9. 4.	11,80	23,41			11,61	98,40	6,5
Mittelwerte	12,78	23,69			10,91	85,41	
			B. Bei 15° C				
30. 1.	12,90		24,30		11,40	88,37	4,5
13. 2.	13,67		28,27		14,60	106,80	5
27. 2.	13,14		27,99		14,85	113,01	5,4
5. 3.	12,42		29,10		16,68	134,30	5,5
9. 4.	11,80		24,285		12,485	105,80	6,5
Mittelwerte	12,78		26,79		14,01	109,65	
			C. Bei 7,5° C				
5. 3.	12,42			28,87	16,45	132,44	5,5
9. 4.	11,80			27,32	15,52	131,52	6,5
Mittelwerte	12,11			28,09	15,98	131,98	

Ergebnis vom 1. 3. — beweist, daß bei der tieferen Temperatur von 7,5° C die VC-Gehalte als Resultante der Aufbau- und der Abbauvorgänge größer sind als bei 25° C.

Tabelle 3. *Maximale VC-Gehalte der Gewebeschnitte von der Sorte Bona-Hochzucht bei 25 und 7,5° C*

a	b	c	d	e
Nr.	Tag der Analyse	max. VC-Gehalt nach 48 Std 25° C	max. VC-Gehalt nach 8—10 Tagen 7,5° C	Absolute Differenz c—b	Differenz c—b in Prozent der 25°-Werte
		mg-%	mg-%	mg-%	%
1	11. 10.	30,16	35,71	+ 5,55	+ 18,4
2	18. 10.	30,72	36,11	+ 5,39	+ 17,56
3	2. 11.	31,93	36,08	+ 4,15	+ 13,0
4	1. 3.	29,46	29,13	− 0,33	− 1,2
5	3. 5.	24,95	29,30	+ 4,35	+ 17,52
Mittelwerte ohne 4				+ 4,86	+ 16,62

Es sei bemerkt, daß die aufgeführten Werte Mittelwerte als arithmetisches Mittel aus jeweils mehreren Parallelbestimmungen darstellen und deutlich außerhalb der mit 10% anzusetzenden Toleranz liegen.

Als weiterer Beweis, daß die VC-Gehalte mit absinkender Temperatur steigen, seien die Ergebnisse an der Sorte Bona-Nachbau bei 15° C angeführt (Abb. 2, Tabelle 2A und B). Der maximale VC-Gehalt wird bei dieser Temperatur nach 5—6 Tagen erreicht und liegt um fast 25% höher als bei 25° C. Denn die Zunahme gegenüber dem Nullwert in Prozent des Nullwertes beträgt bei 15° C 109,65%, während die für 25° C nur 85,41% ausmacht (Tabelle 2A und B, Spalte g).

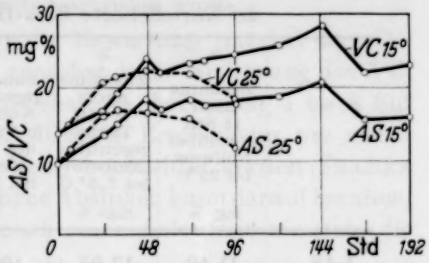

Abb. 2. Veränderungen des AS- und VC-Gehaltes in Kartoffelgewebeschnitten (Sorte Bona-Nachbau) aus einer Knolle bei 15° und 25° C

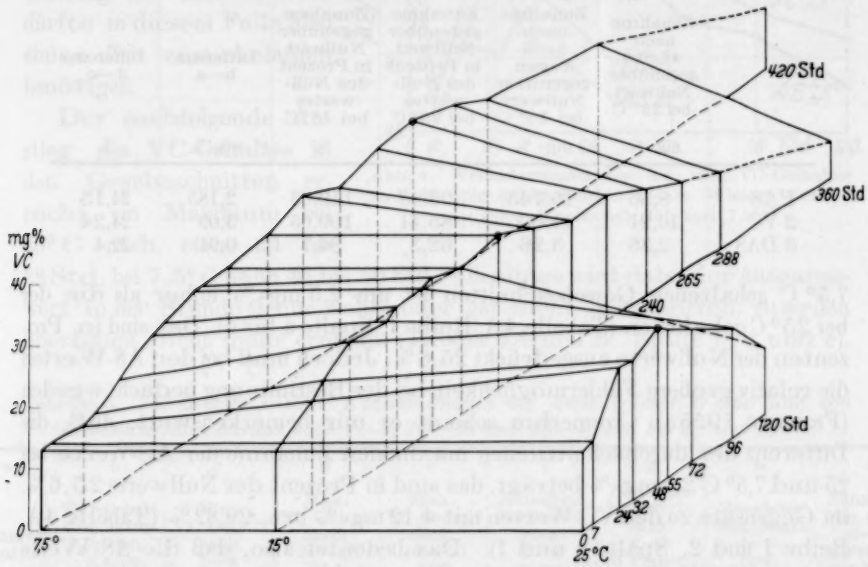

Abb. 3. Dreidimensionales Diagramm, welches die Veränderungen des VC-Gehaltes von Kartoffelgewebeschnitten (Sorte Bona-Nachbau) in der Zeiteinheit bei verschiedenen Temperaturen zeigt. Die mit Kreis markierten Punkte kennzeichnen jeweils das VC-Maximum

Aus dem Vergleich der mittleren Zunahmebeträge in Prozenten der Nullwerte (Tabelle 2A bis C, Spalte g) ist zu erkennen, daß mit sinkender Temperatur von 25 über 15 zu 7,5° C der Anstieg des VC-Gehaltes zunimmt, wobei das Maximum zeitlich immer später auftritt. Ein Diagramm (Abb. 3) soll diese Aussagen verdeutlichen.

Bei der Betrachtung der hier nicht im einzelnen aufgeführten AS-Werte gilt im Prinzip das gleiche. Die Zunahme an AS bei den bei

Tabelle 4

A. Durchschnittliche Zunahme der Gehalte an AS, VC und DAS bei Gewebeschnitten der Kartoffelsorte Bona-Hochzucht bei 25 und 7,5° C

	a Zunahme nach 48 Std gegenüber Nullwert bei 25°C mg-%	b Zunahme nach 8—10 Tagen gegenüber Nullwert bei 7,5° C mg-%	c Zunahme gegenüber Nullwert in Prozent des Nullwertes bei 25° C %	d Zunahme gegenüber Nullwert in Prozent des Nullwertes bei 7,5° C %	e Differenz b—a mg-%	f Differenz d—c %
1 AS	11,42	13,95	108,6	134,22	2,53	25,62
2 VC	14,71	18,83	101,91	131,73	4,12	29,82
3 DAS	3,29	4,88	80,7	124,49	1,59	43,79

B. Durchschnittliche Zunahme der Gehalte an AS, VC und DAS bei Gewebeschnitten der Kartoffelsorte Bona-Nachbau bei 25 und 15° C

	a Zunahme nach 48 Std gegenüber Nullwert bei 25° C mg-%	b Zunahme nach 5—6 Tagen gegenüber Nullwert bei 15° C mg-%	c Zunahme gegenüber Nullwert in Prozent des Nullwertes bei 25° C %	d Zunahme gegenüber Nullwert in Prozent des Nullwertes bei 15° C %	e Differenz b—a mg-%	f Differenz d—c %
1 AS	8,56	10,745	95,48	119,63	2,185	24,15
2 VC	10,91	14,00	85,41	109,65	3,09	24,24
3 DAS	2,35	3,26	62,3	84,7	0,91	22,4

7,5° C gehaltenen Gewebeschnitten ist um 2,5 mg-% höher als die der bei 25° C gehaltenen (Tabelle 4 A, Reihe 1, Spalte a bis e). Das sind in Prozenten der Nullwerte ausgedrückt 25,6%. Jedoch muß bei den AS-Werten die relativ größere Fehlermöglichkeit bei der Bestimmung bedacht werden (FRANKE 1955a). Immerhin scheint es mir bemerkenswert, daß die Differenz der durchschnittlichen maximalen Zunahme der AS-Werte bei 25 und 7,5° C 2,5 mg-% beträgt, das sind in Prozent der Nullwerte 25,6%, im Gegensatz zu den VC-Werten mit 4,12 mg-% bzw. 29,82% (Tabelle 4 A, Reihe 1 und 2, Spalte e und f). Das bedeutet also, daß die AS-Werte bei 7,5° C nicht im gleichen Maße ansteigen wie die VC-Werte.

Die maximale Zunahme an AS bei 15° C liegt gegenüber 25° C um 2,18 mg-% höher, das sind in Prozenten des Nullwertes 24,15%, während die Zunahme an VC mit 3,09 mg-% 24,24% ausmacht (Tabelle 4 B, Reihe 1 und 2, Spalte e und f). Hier also ist die Zunahme an AS etwa so groß wie die an VC. Wir werden darauf in der Besprechung zurückkommen.

2. Gewebeschnitte an Kohlrabiknollen

Um die bisherigen Befunde durch ein weiteres Beispiel zu belegen, wurden Versuche an Kohlrabiknollen unternommen.

a) Methodik. Zu den Versuchen wurden Knollen der Kohlrabisorte Wiener Weißer verwendet, die im übrigen nach derselben Methode behandelt wurden, wie sie bei den Versuchen mit Kartoffeln bereits beschrieben wurde.

b) Versuchsergebnisse. Entgegen der Erwartung trat bei den Gewebeschnitten nach dem Schneiden zunächst keine Steigerung des VC-Gehaltes ein, vielmehr sank der VC-Gehalt in den ersten 7 bis 8 Std ab und stieg dann erst an (Abb. 4). Dieselbe Erscheinung war schon früher bei der Kartoffelsorte „Frühe Vera" beobachtet worden (FRANKE 1954). Die Ursache für dieses anfängliche Absinken kann darauf beruhen, daß der VC-Synthesevorgang erst nach einer Anlaufzeit einsetzt, die eine Arteigenschaft darstellt, während der VC-Abbauvorgang weiter wirksam bleibt. Die durch die Verletzung ausgelöste Aktivierung des Stoffwechsels dürfte in diesem Falle also einige Zeit zum Anlaufen benötigen.

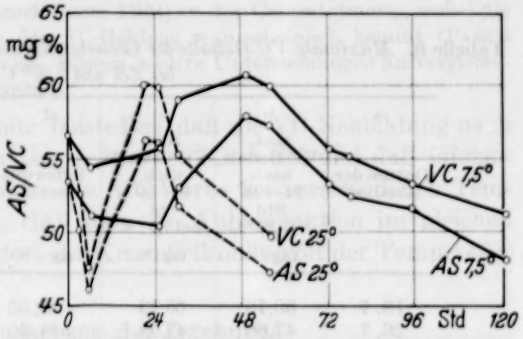

Abb. 4. Veränderungen des AS- und VC-Gehaltes in Kohlrabigewebeschnitten (Sorte Wiener Weißer) aus einer Knolle bei 25° und 7,5° C

Der nachfolgende Anstieg des VC-Gehaltes in den Gewebeschnitten erreicht ein Maximum bei 25° C nach etwa 24 bis 28 Std, bei 7,5° C nach 46 bis 50 Std. Allerdings wird dabei der Ausgangswert in der Stunde 0 nur wenig oder gar nicht überschritten, zuweilen überhaupt nicht mehr erreicht (Tabelle 5A und B, Spalte b, d und e).

Tabelle 5. *VC-Gehalte frischer Kohlrabiknollen der Sorte Wiener Weißer und von Gewebeschnitten daraus nach 7—8, 24—28 und 46—50 Std bei 25 und 7,5° C*

a	b	c	d	e	f	g	h	i
Datum der Analyse	VC-Gehalt der unverletzten Knolle (Nullwert)	Min. VC-Gehalt nach 7—8 Std	Max. VC-Gehalt nach 24—28 Std bei 25°	Max. VC-Gehalt nach 46—50 Std bei 7,5°	Zunahme Nullwert-Max. d—b bzw. e—b	Zunahme Nullwert-Max. d—b in Prozent des Nullwertes	Zunahme Min.-Max. d—c bzw. e—c	Zunahme Min.-Max. d—c in Prozent des Nullwertes
	mg-%	mg-%	mg-%	mg-%	mg-%	%	mg-%	%
A. Bei 25° C								
18. 7.	56,63	47,45	60,18		3,55	6,26	12,73	26,80
26. 7.	45,79	38,86	47,60		1,81	3,95	8,74	22,49
1. 8.	47,80	—	41,15		—	—	—	—
B. Bei 7,5° C								
18. 7.	56,63	54,43		60,73	4,10	7,24	6,30	11,50
26. 7.	45,79	39,46		47,95	2,16	4,70	8,49	21,50
1. 8.	47,80	—		41,95	—	—	—	—

Die VC-Neubildung kann daher nicht aus der Differenz der maximalen Werte gegenüber dem Ausgangswert in der Stunde 0 ersehen werden (Tabelle 5A und B, Spalte f und g). Vielmehr muß man den Maximalwert auf den tiefsten Wert in der Stunde 7—8 beziehen und erhält dann eine relative Zunahme, die in Prozenten des Minimalwertes ausgedrückt über 10% beträgt und somit außerhalb der Toleranz liegt (Tabelle 5A und B, Spalte i).

Nach dem Erreichen des Maximums sinkt der VC-Gehalt allmählich wieder ab. Somit ergibt sich, daß auch bei Kohlrabiknollen wohl im Zusammenhang mit den durch die Verletzung beim Schneiden aus-

Tabelle 6. *Maximale VC-Gehalte der Gewebeschnitte der Kohlrabisorte Wiener Weißer bei 25 und 7,5° C*

a	b	c	d	e	f
Datum der Analyse	Max. VC-Gehalt nach 24—28 Std bei 25° C	Max. VC-Gehalt nach 46—50 Std bei 7,5° C	Differenz c—b	Differenz c—b in Prozenten der 25°-Werte	Trockengewicht in Prozenten des Frischgewichtes
	mg-%	mg-%	mg-%	%	%
18. 7.	60,18	60,73	+0,55	+0,91	4,54
26. 7.	47,60	47,95	+0,35	+0,73	5,53
1. 8.	41,15	41,95	+0,80	+1,94	5,60

gelösten Regenerationsvorgängen, die von HABERLANDT (1913) schon histologisch untersucht und als Zellteilungen der an die zerstörten Zellen angrenzenden Gewebeteile beschrieben wurden, eine Stoffwechselaktivierung erfolgt, mit der auch ein Anstieg des VC-Gehaltes verknüpft ist. Die einsetzende VC-Synthese steht hier ebenfalls mit einem Abbauvorgang im Gleichgewicht, der anfangs bis zur 7.—8. Stunde überwiegt, jedoch bei 7,5° C offensichtlich mit geringerer Geschwindigkeit als bei 25° C verläuft. Bei dem folgenden Anstieg wird der Bildungsvorgang bei 7,5° C allerdings doch stärker gehemmt als bei Kartoffelgewebeschnitten. Die Maximalwerte nach rund 48 Std liegen daher nur sehr wenig über den Maximalwerten bei 25° C nach 24—48 Std. Aus Tabelle 6 ergibt sich, daß die geringe Differenz der Maximalwerte mit etwa 1,2% noch innerhalb der Toleranz liegt. Eine eindeutige Tendenz können wir freilich aus den wiedergegebenen Werten doch entnehmen, da sie Mittelwerte aus bis zu 16 Parallelbestimmungen darstellen, womit der Schwankungsbereich gut begrenzt ist.

Eine Deutung des unterschiedlichen Verhaltens der Kohlrabiknollen gegenüber Kartoffeln bezüglich des geringeren Ausmaßes der VC-Neubildung nach der Verletzung ist schwierig. Schon bei Spargelsprossen war nur ein schwacher VC-Anstieg beobachtet worden (FRANKE 1954), obwohl dort die Ursache in dem relativ mäßigen Umfang der Verletzung beim Schneiden gesucht worden war. Vielleicht ist der

Unterschied aus der physiologischen Bedeutung der Organe zu verstehen. Während nämlich die Kartoffelknolle ein Fortpflanzungsorgan der Pflanze darstellt und ihre gespeicherten Nährstoffe für die Ausbildung von Erneuerungssprossen dienen, werden beim Kohlrabi die Reserven nur für die Entfaltung des Blütenstandes, also für die reproduktive Phase aufbewahrt. Die physiologische Potenz ist demnach gegenüber der Kartoffelpflanze eingeengt, da eine Kohlrabiknolle in der Regel keinen bewurzelten Erneuerungsprozeß zu bilden vermag. Möglicherweise sind daher auch die Fermentmengen im Knollengewebe des Kohlrabi kleiner als die im Kartoffelknollengewebe, so daß die synthetische Leistung der Kohlrabiknolle hinter der der Kartoffelknolle zurückbleibt. Ob diese Deutung zutrifft oder ob die Ursache in einem unterschiedlichen Anteil der verschiedenen Atmungsmechanismen (Glycolyse nach Embden-Meyerhof-Parnass oder direkte Oxydation der Glucose, vgl. Beevers und Gibbs 1954) an der Gesamtatmung, wobei die direkte Oxydation der Glucose die VC-Bildung wahrscheinlich hemmt (Paech 1955, Franke 1955b), zu suchen ist, müssen weitere Untersuchungen an vergleichbaren Knollen anderer Arten ergeben.

Hier läßt sich zunächst nur feststellen, daß die VC-Neubildung nach der Verletzung viel geringer ist als bei der Kartoffel und daß infolgedessen die Differenz der maximalen VC-Werte bei verschiedenen Temperaturen weit geringer ist, daß aber die Abbaureaktion im gleichen Sinne wie bei Gewebeschnitten der Kartoffelknolle von der Temperatur beeinflußt wird.

IV. Besprechung der Ergebnisse

Die Wirkung der Temperatur auf einen biologischen Ablauf erstreckt sich zwar über den gesamten Temperaturbereich, innerhalb dessen Leben überhaupt möglich ist, die eigentliche Aktivität des Ablaufes ist aber, kurvenmäßig gesehen, durch die zwei Kardinalpunkte Minimum und Maximum begrenzt. Unterhalb des Minimums und oberhalb des Maximums besteht keine Aktivität. Zwischen diesen beiden Grenzen jedoch bestimmt die Temperatur die Geschwindigkeit des Ablaufes. Sie ist im Optimum am höchsten, wobei dieses Optimum mit dem Maximum übereinstimmen oder wie in der Regel zwischen den beiden Kardinalpunkten liegen kann. Ein biologischer Ablauf wird allerdings in den meisten Fällen durch mehrere Teilabläufe bedingt, die durchaus verschiedene Temperaturoptima besitzen können. So gliedert sich beispielsweise die Entwicklung einer Pflanze als biologischer Ablauf in mehrere Teilabläufe, von denen die Samenkeimung vielfach bei niedrigeren, aber auch zuweilen bei höheren Temperaturen optimal erfolgt, das Wachstum der sich entwickelnden Keimlinge dagegen sich erst bei höheren bzw. niedrigeren Temperaturen am besten vollzieht, während der günstigste Ablauf der reproduktiven Phase wieder anderen, z. T. verschiedenen Wärmegraden zugeordnet ist (vgl. Wetzel 1941, Rudorf 1941, Knapp 1956). Biochemisch gesehen können dank solcher unterschiedlicher Temperaturabhängigkeit bestimmte Intermediärprodukte infolge eines optimal verlaufenden Teilvorganges A angereichert

werden, die von einem suboptimalen Teilvorgang B nur zum Teil verbraucht werden. Wird nun bei einem Temperaturwechsel der Teilvorgang B optimal, so schwinden diese Intermediärprodukte allmählich, weil mehr Intermediärprodukte umgesetzt werden, als der jetzt suboptimal ablaufende Teilvorgang A nachliefert. In jedem Falle wird sich auf die Dauer ein Gleichgewichtszustand zwischen den Teilvorgängen einstellen.

Ein konstanter Gehalt an einem Intermediärprodukt kann nun auf zwei Wegen zustande kommen. Entweder sorgt ein gleichmäßiger Temperaturwechsel — alle anderen Faktoren sollen in unserem Gedankenbeispiel als nicht im Minimum befindlich vorausgesetzt werden und daher ohne Berücksichtigung bleiben — nach Art einer Schaukelbewegung für kurzperiodische und dabei genügend rasche Anreicherung und Wiederverbrauch des Intermediärproduktes, oder eine bestimmte und konstante Temperatur läßt beide Teilvorgänge mit gleicher Geschwindigkeit ablaufen, so daß im letzteren Falle ein konstantes Gleichgewicht vorliegt.

In der Natur ist jedoch eine konstante Temperatur zumeist nicht gegeben. Der Gehalt an dem Intermediärprodukt wird sich daher verändern, wobei er in der Regel mit steigender Temperatur innerhalb bestimmter Grenzen anwächst bzw. mit sinkender Temperatur sich vermindert.

Das von uns untersuchte VC erweist sich nun ebenfalls als ein Intermediärprodukt, dessen Menge bei einem Temperaturwechsel schwankt. Die Angaben aus der Literatur und die eigenen Beobachtungen lassen jedoch erkennen, daß der jeweilige VC-Gehalt einer Pflanze oder eines Organes im allgemeinen bei tieferen Temperaturen größer ist als bei höheren. In Ergänzung zu den schon erwähnten Literaturbefunden seien noch einige weitere nachgetragen. So berichten neuerdings SAYRE und Mitarb. (1953), daß der AS-Gehalt reifender Tomaten um so größer war, je tiefere Temperaturen auf die Pflanzen einwirkten. Zum Beispiel besaßen die Früchte einen höheren AS-Gehalt, wenn tagsüber 15° C und nachts 7° C herrschten, als bei 27 bzw. 18° C. Zwar reiften die Tomaten bei den tieferen Temperaturen schlechter, doch ist damit wiederum nur gekennzeichnet, daß das Optimum des Reifungsvorganges bei höherer Temperatur liegt als das derjenigen Vorgänge, die zu einem großen AS-Gehalt führen. Ganz Entsprechendes berichtet GURMAZA (1954) von Kartoffelpflanzen, die in ihren Knollen bei Bodentemperaturen zwischen 25 und 40° C weniger VC aufwiesen als bei solchen unter 25° C. Die Zahl der Beispiele ließe sich noch weiter vermehren.

Die Temperatur beeinflußt also den VC-Gehalt sehr eigenartig, und zum Verständnis der geschilderten Beobachtungen ist nun eine Analyse aller der Vorgänge notwendig, die an der Bildung, Erhaltung und Verminderung des VC-Gehaltes beteiligt sind.

Der Synthesevorgang ist, wie schon beschrieben wurde, mit bestimmten Atmungsabläufen verknüpft, bei denen aus Glucose oder anderen Zuckern durch Katalyse mehrerer Fermente unter O_2-Verbrauch solche Verbindungen entstehen, die durch gleichzeitig aktivierte Reaktionen zu AS umgewandelt werden. Je größer die Intensität dieser Atmung bei ausreichender Versorgung mit Glucose ist, um so mehr AS kann gebildet werden. Die Atmungsintensität erhöht sich mit steigender Temperatur innerhalb physiologischer Grenzen, und also erhöht sich auch der AS-Gehalt. Gleichzeitig sorgt aber ein Abbauvorgang, bei dem die AS zunächst zur DAS oxydiert, dann wahrscheinlich zu Diketogulonsäure, Threonsäure und Oxalsäure weitertransformiert und schließlich zu CO_2 und H_2O abgebaut wird, für eine Verminderung des VC-Gehaltes.

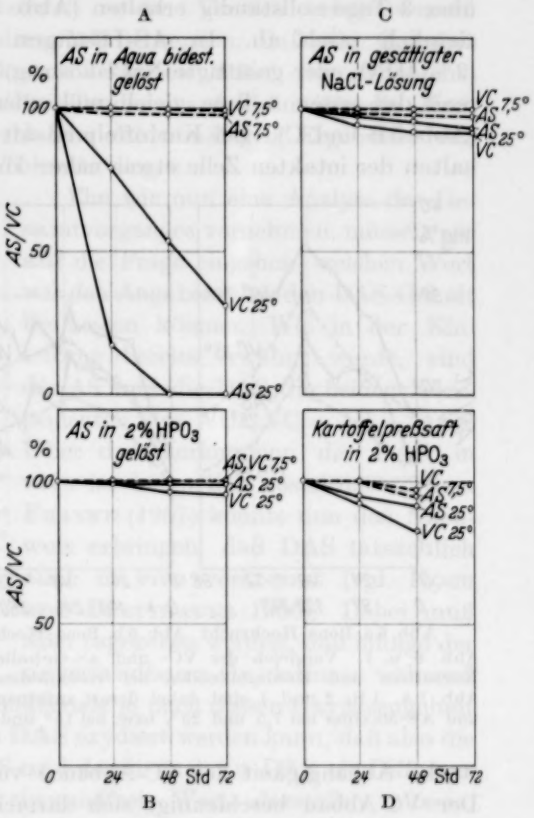

Abb. 5 A—D. Der Abbau von AS und VC in reinen Lösungen von AS (Merck) und in Kartoffelpreßsaft mit und ohne Oxydationsschutzmittel bei 25° und 7,5° C in der Zeit

Dieser Abbauvorgang bedarf ebenfalls des Sauerstoffes, wie aus Versuchen in Stickstoffatmosphäre hervorgeht (Franke 1954, Abb. 7), bei denen trotz tagelanger Lagerung von Gewebeschnitten unter diesem Gas der VC-Gehalt kaum absank. Auch Barker und Mapson (1952) konnten bei in Stickstoff gelagerten Kartoffeln keinen wesentlichen VC-Verlust unabhängig von der Temperatur feststellen. Bei Sauerstoffzutritt jedoch kommt es je nach der Temperatur zu einem mehr oder weniger starken Absinken des VC-Gehaltes. Um die Abhängigkeit des VC-Abbaues von der Temperatur zu studieren, haben wir Versuche angestellt, deren Ergebnisse in Abb. 5 wiedergegeben werden. Hierbei wurden Lösungen reiner AS (*Merck*) in bidestilliertem Wasser bzw. Kartoffelpreßsaft mit und ohne Zusatz eines Oxydationsschutzmittels (HPO_3 bzw. NaCl, vgl. Marx 1954) teils bei 25°, teils bei 7,5° C gehalten und

über mehrere Tage auf ihren AS- bzw. VC-Gehalt geprüft. Reiner Kartoffelpreßsaft war dank seines Reichtums an Oxydasen schon nach einigen Minuten praktisch frei von VC, d. h. während der Extraktion wurde der gesamte VC-Gehalt oxydiert und abgebaut. Dagegen bleibt der VC-Gehalt einer reinen AS-Lösung in Aqua bidestillata bei 7,5° C über 3 Tage vollständig erhalten (Abb. 5 A). Bei 25° C aber sinkt er ziemlich rasch ab. In AS-Lösungen mit Oxydationsschutzmitteln (2% HPO_3 oder gesättigte NaCl-Lösung) ist der Verlust bei 7,5° C während der ersten 3 Tage gleich null oder bei 25° C doch sehr gering (Abb. 5 B und C). Bei Kartoffelpreßsaft mit 2% HPO_3, der dem Verhalten der intakten Zelle etwas näher kommt, erweist sich deutlich die

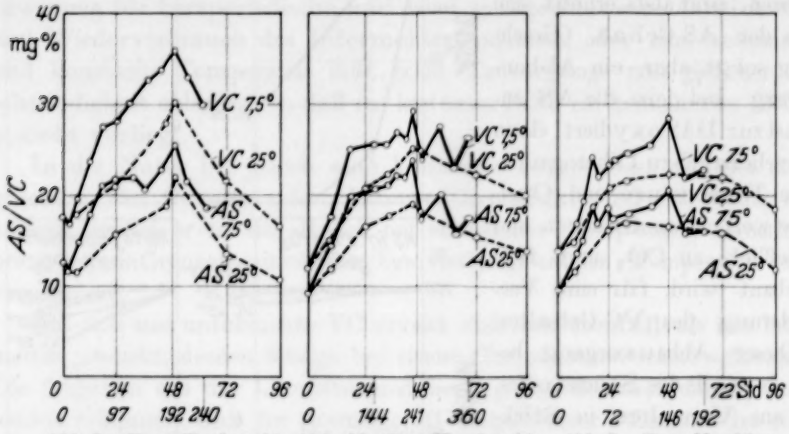

Abb. 6 a. Bona-Hochzucht Abb. 6 b. Bona-Hochzucht Abb. 7. Bona-Nachbau

Abb. 6 u. 7. Vergleich der VC- und AS-Gehaltsänderungen in Gewebeschnitten von Kartoffeln und Kohlrabiknollen bei verschiedenen Temperaturen. Die Kurven der Abb. 1 A, 1 B, 2 und 4 sind dabei derart aufeinander projiziert, daß die jeweiligen VC- und AS-Maxima bei 7,5 und 25°, bzw. bei 15° und 25° C übereinander zu liegen kommen

starke Abhängigkeit des VC-Abbaues von der Temperatur (Abb. 5 D). Der VC-Abbau beschleunigt sich danach mit steigender Temperatur. Bei den Versuchen fällt indessen auf, daß bei 25° C der VC-Gehalt, also der Gehalt an AS + DAS, prozentual stärker absinkt als der Gehalt an AS allein (Abb. 5 B bis D). Das heißt, bei dieser Temperatur muß der Verlust an AS offenbar geringer sein als der an DAS. Wir werden unten darauf zurückkommen.

Leider ist es nicht möglich, auch die VC-Bildung für sich in Abhängigkeit von der Temperatur zu studieren. Es ist jedoch anzunehmen, daß dieser Vorgang nicht minder mit steigender Temperatur beschleunigt wird.

Demgegenüber wird der VC-Gehalt als Resultante beider Vorgänge von der Temperatur in dem Sinne beeinflußt, daß mit steigender Temperatur der VC-Gehalt geringer wird, mit fallender Temperatur anwächst. In den Abb. 6—8 soll diese Aussage noch deutlicher gemacht werden

durch eine Projektion der Kurven der Abb. 1—4 aufeinander derart, daß die jeweiligen Maxima bei 25°, 15° und 7,5° C übereinander zu liegen kommen. Dadurch wird gezeigt, daß von Anfang an für AS wie VC bei 7,5 und 15° C höhere Werte entstehen als bei 25° C, daß also die Steigerung des VC-Gehaltes durch tiefere Temperaturen für den gesamten Vorgang, soweit er im Versuch erfaßt wurde, zutrifft. Die Abb. 8 insbesondere läßt erkennen, daß die Gewebeschnitte von Kohlrabi in ihrem Verhalten unter den Versuchsbedingungen deutlich die gleiche Tendenz aufweisen wie die Kartoffelgewebeschnitte, wenn auch die zahlenmäßigen Ergebnisse der Versuche noch innerhalb der Toleranz liegen.

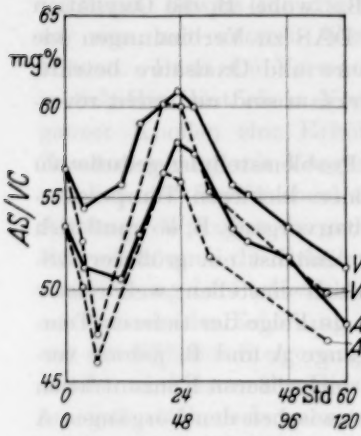

Abb. 8. Kohlrabi

Ehe wir nun eine Analyse des Gesamtvorganges vornehmen, müssen wir auf die Frage eingehen, welchen Wert wir den Angaben über den DAS-Gehalt beimessen können. Wie in der Einleitung bereits erwähnt wurde, sind die AS und die DAS die beiden Komponenten des VC: VC = AS + DAS. Über das Vorkommen der DAS in vivo ist lange Zeit gestritten worden. Franke (1957) konnte nun den Nachweis erbringen, daß DAS tatsächlich auch in vivo vorkommt (vgl. Koch und Bretthauer 1956). Dabei muß aber zugegeben werden, daß infolge der unvermeidbaren Oxydationen während der Aufarbeitung des Analysenmaterials je nach dessen Oxydasengehalt ein Teil der vorhandenen AS zu DAS oxydiert werden kann, daß also die Angaben über die Menge an AS und damit auch an DAS als Differenz DAS = VC—AS nicht immer einwandfreie Werte darstellen müssen. Bei unseren vergleichenden Versuchen jeweils am gleichen Objekt, ja sogar an derselben Knolle ist es aber sicher, daß der durch Oxydation bedingte Fehler infolge stets derselben Methode immer relativ von gleicher Größenordnung ist. Das heißt, wir können die AS- und DAS-Werte als relative Angaben untereinander vergleichen. Wenn dann Unterschiede auftreten, sind sie als reell und nicht als methodisch bedingt anzusehen. Die VC-Werte sind jedoch in jedem Fall absolut richtig innerhalb der objektbedingten Fehlerbreite von etwa 10% bei Kartoffelknollen.

Auf Grund dieser Darlegungen dürfen wir nun bei der Analyse der Temperaturwirkung auf den VC-Gehalt auch die Angaben über AS und DAS vergleichend verwenden, müssen uns allerdings stets bewußt bleiben, daß diese Angaben nur *relativ* sind. Es empfiehlt sich daher,

mit dem Verhältnis AS:DAS zu arbeiten. Dieser Quotient ist als dimensionslose Größe für vergleichende Betrachtungen besonders geeignet und soll deshalb hier eingeführt werden, wozu eine Berechtigung unter Beachtung der oben gemachten Ausführungen gegeben ist. Der Quotient wird normalerweise nicht kleiner als 1, meist aber größer als 1 sein, d. h. es ist mehr AS als DAS vorhanden.

Bei der Interpretation unserer Versuchsergebnisse müssen wir davon ausgehen, daß der VC-Gehalt das Resultat zweier Vorgänge ist, nämlich eines Aufbauvorganges, den wir mit A, und eines Abbauvorganges, den wir mit B bezeichnen wollen. Der Aufbauvorgang ist biochemisch eine Umwandlung von Hexosen zu AS. Der Abbauvorgang gliedert sich aber in die zwei Teilvorgänge B_1 und B_2, wobei B_1 die Oxydation der AS zu DAS, B_2 die Umwandlung der DAS zu Verbindungen wie möglicherweise Diketogulonsäure, Threonsäure und Oxalsäure betrifft, die jedenfalls nicht mehr antiskorbutisch wirksam sind und nicht reversibel in DAS übergehen können.

Wenn nun entsprechend unserer in der Problemstellung geäußerten Hypothese der Aufbauvorgang A durch einen kleineren Temperaturkoeffizienten gekennzeichnet ist als der Abbauvorgang B, so muß sich bei Einwirkung einer tieferen Temperatur zunächst ein größerer AS-Gehalt und damit auch ein größerer VC-Gehalt einstellen, weil relativ mehr AS gebildet als abgebaut wird. Denn als Folge der tieferen Temperatur verlangsamen sich zwar beide Vorgänge A und B, jedoch verlangsamt sich A weniger stark als B. Infolge der größeren Konzentration an AS wird sich indessen in bestimmter Zeit zwischen den Vorgängen A und B_1 ein Gleichgewicht einstellen, bei dem nun mehr AS zu DAS oxydiert wird. Dadurch wird sich der Gehalt an DAS erhöhen und, solange der Abbau der DAS (Vorgang B_2) noch nicht im Gleichgewicht mit Vorgang B_1 steht, auch der VC-Gehalt als Summe AS + DAS noch etwas anwachsen. Dank der größeren Konzentration an DAS wird sich schließlich auch ein Gleichgewicht zwischen den Vorgängen B_1 und B_2 einstellen, wodurch mehr DAS als vorher abgebaut wird. Infolgedessen wird der VC-Gehalt wieder ein wenig absinken. Nunmehr befinden sich aber die drei Teilvorgänge insgesamt im Gleichgewicht, doch ist der VC-Gehalt dank der relativ stärkeren AS-Bildung bei der tieferen Temperatur größer als bei der höheren.

Als charakterisierende Größe der Veränderungen in den Einzelschritten kann dabei der Quotient AS:DAS dienen. Der Quotient müßte sich nämlich mit Einsetzen der relativ stärkeren AS-Bildung zunächst vergrößern. Mit dem Einpendeln des Gleichgewichtes zwischen A und B_1 sollte er wieder absinken und bei Herstellung des Gleichgewichtes zwischen A, B_1 und B_2 die gleiche Größe wie vor Beginn der Temperaturveränderung erreichen.

Die Gleichgewichtseinstellung dürfte bei einem plötzlichen und einmaligen Wechsel der Temperatur ziemlich rasch erfolgen. Denn bei Versuchen mit gleich großen Knollen derselben Kartoffelstaude, von denen die einen bei 18° C sofort, die anderen aber nach eintägiger Lagerung bei 7,5° C analysiert wurden, ergab sich gegenüber der Kontrolle bei 18° C mit einem VC-Gehalt von 24,41 mg-% bei den Knollen bei 7,5° C ein größerer VC-Gehalt von 37,1 mg-%. Der Quotient jedoch war in beiden Fällen etwa gleich groß und betrug 4,7 bei 18° C und 4,8 bei 7,5° C. Die Veränderung des Quotienten AS:DAS hatte sich also vermutlich bereits vollzogen und die Reaktionen befanden sich wieder im Gleichgewicht.

Einen Beweis für die Richtigkeit unserer Interpretation glauben wir nun mit unseren Versuchen an Gewebeschnitten erbringen zu können. Denn die Verwundung der Knollen durch das Zerschneiden in Scheiben löst einen Vorgang aus, der ebenfalls wie die Abkühlung ganzer Knollen eine Erhöhung des VC-Gehaltes zur Folge hat. Im Zusammenhang mit Vorgängen, die zum Wundverschluß führen, wird nämlich der Stoffwechsel zunehmend intensiviert und damit auch die Atmung. Wie oben dargetan worden ist, ist mit dieser Atmungssteigerung eben auch die Erhöhung des VC-Gehaltes verbunden. Da die Intensivierung des Stoffwechsels aber nicht plötzlich und einmalig, sondern, wie sich aus der Erhöhung der Atmungsintensität ergibt (Franke 1954), mit allmählicher Steigerung erfolgt, also auch die AS-Bildung allmählich erhöht wird, kann die Einstellung der Gleichgewichte modellmäßig wie an einer stark verlangsamten Reaktion beobachtet werden.

An Hand der Tabelle 7A sei der Sachverhalt dargestellt. Von der Stunde 0 bis 48 erhöht sich entsprechend dem Atmungsanstieg der VC-Gehalt bis zu einem Maximum und vermindert sich dann wieder mit absinkender Atmungsintensität (Tabelle 7A, Reihe 1). Für unseren Vergleich mit den Vorgängen beim einmaligen Wechsel von höheren zu tieferen Temperaturen dürfen wir also zunächst nur die Werte bis zur 50. Stunde verwenden. Wie oben beschrieben, sollte zuerst der AS-Wert ansteigen und sich dadurch gleichzeitig der Quotient AS:DAS erhöhen (Tabelle 7A, Reihe 2 und 4). Zur Stunde 30 wird nun ein Maximum an AS erreicht und gleichzeitig ist der Quotient zahlenmäßig am größten. Während dieser Vorgänge beginnt sich auch ein Gleichgewicht zwischen den Vorgängen A und B_1 einzustellen, d. h. die Oxydation von AS zu DAS erhöht sich, so daß der DAS-Wert ansteigt (Reihe 3). Da sich einerseits die AS-Bildung noch immer etwas erhöht und das Gleichgewicht zwischen den Vorgängen B_1 und B_2 erst einzuspielen beginnt, steigt auch noch der VC-Gehalt als Summe AS + DAS bis zur 48. Stunde an (Reihe 1). Der Quotient aber wird kleiner, weil DAS relativ zunimmt (Reihe 4). Ist nun schließlich das Gleichgewicht

zwischen den Vorgängen B_1 und B_2 erreicht, ist also damit das Gesamtgleichgewicht wiederhergestellt, so wird nunmehr DAS im gleichen Maße abgebaut, wie AS und DAS entstehen. Der VC-Gehalt muß daher wieder etwas absinken (Stunde 50) und der Quotient sich einem Zahlenwert nähern, wie er in der Stunde 0 bestand (Tabelle 7 A, Reihe 4).

Im Falle einer einmaligen Veränderung der Geschwindigkeiten der Teilvorgänge mit nachfolgender Einstellung des Gleichgewichtes, wie sie bei einem einfachen Temperaturwechsel erfolgen würde, müßte sich der VC-Gehalt und der Quotient nunmehr auf gleicher Höhe halten. Aus unseren Ergebnissen der Tab. 7 A können wir das nicht entnehmen. Denn bei den hier als Modell verwendeten Gewebeschnitten beginnt die Atmungsintensität bei 25° C etwa von der 48. Stunde ab wieder zu sinken, und mit ihr fällt auch die Intensität der AS-Bildung ab. Das Wechselspiel der Gleichgewichtseinstellung wird daher im umgekehrten Sinne einsetzen, doch wollen wir darauf erst weiter unten eingehen.

Wenden wir uns nun denselben Versuchen bei 7,5° C zu, so ist zu bedenken, daß zu der durch die Verwundung ausgelösten Steigerung der Atmungsintensität und der damit verbundenen Erhöhung der AS-Bildung zusätzlich noch die Wirkung der tieferen Temperatur kommt, nämlich die relativ geringere Verlangsamung der AS-Bildung und die relativ stärkere der Abbauvorgänge. Die VC-Gehalte müssen also

Tabelle 7. *Das Verhältnis AS : DAS in Mittelwerten bei Gewebeschnitten der Kartoffelsorte Bona-Hochzucht*

A. Versuche bei 25° C

		Stunde									
		0	6	24	30	46	48	50	55	72	96
1	VC	14,44	15,59	21,78	29,80	26,03	30,28	27,42	28,09	23,42	18,27
2	AS	10,53	11,94	16,89	23,43	19,18	22,40	20,11	20,43	16,06	11,73
3	DAS	3,91	3,65	4,89	6,37	6,85	7,88	7,31	7,66	7,36	6,54
4	AS:DAS	2,69	3,27	3,45	3,67	2,80	2,84	2,74	2,66	2,18	1,79

B. Versuche bei 7,5° C

		Stunde							
		0	6	24	48	72	96	120	144
1	VC	14,44	15,84	17,08	20,55	25,46	25,16	28,56	28,90
2	AS	10,53	11,58	13,13	16,21	19,76	19,75	21,55	21,36
3	DAS	3,91	4,26	3,95	4,34	5,70	5,41	7,01	7,54
4	AS:DAS	2,69	2,71	3,32	3,73	3,46	3,65	3,07	2,83

		Stunde							
		168	192	216	240	264	288	336	384
1	VC	30,38	32,14	29,80	30,05	29,81	29,66	26,23	22,52
2	AS	22,64	23,44	21,04	20,48	19,91	19,86	16,97	12,52
3	DAS	7,74	8,70	8,76	9,57	9,90	9,80	9,26	10,00
4	AS DAS	2,92	2,69	2,40	2,14	2,01	2,02	1,83	1,25

dementsprechend höher sein als bei 25° C. Allerdings verläuft der Gesamtvorgang des Wundverschlusses, also auch die Steigerung der Atmungsintensität viel langsamer (vgl. ROSENSTOCK 1951), so daß die Gleichgewichtsregulierung noch weiter auseinandergezogen ist. Betrachten wir hierzu die Tabelle 7 B. Das Voraneilen der AS-Bildung zeigt sich in der Vergrößerung des Quotienten bis zur Stunde 48 (Tabelle 7 B, Reihe 4). Dann sinkt er allmählich ab, weil sich der Vorgang B_1 mit dem Vorgang A ins Gleichgewicht setzt. Dabei steigt der VC-Gehalt bis zu seinem Maximum in der Stunde 192 (Reihe 1). Daß auch Vorgang B_2 ins Gleichgewicht mit den Vorgängen A und B_1 gekommen ist, also das Gesamtgleichgewicht wiederhergestellt ist, erweist der Quotientenwert, der in diesem Augenblick, nämlich in der Stunde 192, wieder den Wert des Quotienten in der Stunde 0 erreicht hat (Reihe 4).

In der Folge bleibt auch hier der VC-Gehalt aus den gleichen Gründen, wie sie oben angegeben wurden, nicht konstant, sondern fällt wieder ab.

Gehen wir endlich auf die Verhältnisse bei 15° C ein, so wird ein Gesamtablauf zustande kommen, der in der Mitte zwischen denen bei 25 und 7,5° C liegt und im Prinzip die gleichen Erscheinungen aufweist (Tabelle 8 B, Reihe 1, 2 und 4). Das AS-Maximum wird in der Stunde 102,

Tabelle 8. *Das Verhältnis AS:DAS in Mittelwerten bei Gewebeschnitten der Kartoffelsorte Bona-Nachbau*

A. Versuche bei 25° C

		Stunde									
		0	7	24	32	48	55	72	79	96	120
1	VC	12,79	13,53	22,86	22,805	25,43	24,33	21,64	18,54	18,03	10,91
2	AS	9,03	10,69	17,49	18,04	19,09	17,98	14,93	13,09	11,41	6,91
3	DAS	3,76	2,84	5,37	4,765	6,34	6,35	6,71	5,45	6,62	4,00
4	AS:DAS	2,40	3,76	3,26	3,78	3,01	2,83	2,22	2,40	1,72	1,74

B. Versuche bei 15° C

		Stunde						
		0	24	31	48	72	79	96
1	VC	12,79	17,255	19,21	23,14	22,42	23,84	24,305
2	AS	9,03	13,76	14,92	17,75	17,165	17,84	18,405
3	DAS	3,76	3,495	4,29	5,39	5,255	6,00	5,90
4	AS:DAS	2,40	3,93	3,50	3,29	3,26	2,97	3,12

		Stunde						
		102	120	146	168	192	216	265
1	VC	25,15	23,76	26,205	20,47	19,99	20,065	14,57
2	AS	18,83	17,11	18,91	13,96	14,07	13,285	8,06
3	DAS	6,32	6,65	7,295	6,51	5,92	6,78	6,51
4	AS:DAS	2,98	2,57	2,59	2,14	2,37	1,95	1,23

das VC-Maximum in der Stunde 146 erzielt, und der Quotient steigt erst an, fällt anschließend ab und nähert sich dem Anfangswert in der Stunde 146. Der höchste VC-Gehalt ist geringer als bei 7,5°, aber größer als bei 25° C.

Somit stellt sich heraus, daß in der Tat der größere VC-Gehalt bei tieferen Temperaturen auf der Unterschiedlichkeit der Temperaturkoeffizienten für VC-Aufbau und VC-Abbau beruht.

Auf Grund unserer Ergebnisse glauben wir aber, die Analyse noch um einen weiteren Schritt vertiefen zu können. Bisher hatten wir das Zusammenspiel der Teilvorgänge A, B_1 und B_2 bis zum VC-Maximum analysiert und den erhöhten VC-Gehalt bei tieferen Temperaturen auf die stärkere Verlangsamung des Vorgangs B allgemein gegenüber der geringeren des Vorgangs A zurückgeführt. In Übereinstimmung damit steht die Feststellung, daß bei vergleichender Betrachtung der jeweiligen Zunahmebeträge von VC in Kartoffelgewebeschnitten bei 15 und 7,5° C gegenüber 25° C die relative Zunahme an VC bei 7,5° C mit 29,82% größer ist als die bei 15° C mit 24,24%, eben weil der VC-Abbau stärker verlangsamt wird als der VC-Aufbau (s. S. 354, Tabelle 4A und B, Spalte f, Reihe 2). Vergleichen wir aber die relative Zunahme an AS und DAS, so fällt auf, daß die Zunahme an AS bei 15 und 7,5° C fast gleich groß ist, nämlich 24,15% und 25,62% (Tabelle 4A und B, Spalte f, Reihe 1), während die an DAS bei 7,5° C mit 43,79% sich fast auf das Doppelte von der bei 15° C mit 22,4% beläuft (Reihe 3).

Das läßt vermuten, daß sich die Abbauvorgänge B_1 und B_2 bei tieferen Temperaturen nicht beide in gleichem, sondern in verschiedenem Ausmaße verlangsamen, nämlich B_2 stärker als B_1, daß also der Temperaturkoeffizient von B_1 kleiner als der von B_2 sein muß. Denn wenn die Koeffizienten der beiden Teilvorgänge identisch wären, müßte die Zunahme an DAS bei beiden Temperaturen (7,5 und 15° C) etwa gleich groß sein, weil ja die gleiche Menge DAS in der Zeiteinheit abgebaut werden sollte, die durch Oxydation aus AS entsteht. Da aber, wie sich zeigt, die relative Zunahme an DAS bei 7,5° C gegenüber 25° C nahezu doppelt so groß ist wie die bei 15° C, so kann dies nur darauf beruhen, daß sich mit sinkender Temperatur der Abbau der DAS noch langsamer vollzieht als die Oxydation von AS zu DAS. Die DAS reichert sich daher bei tieferen Temperaturen vermehrt an, wodurch der Effekt der Wärmeänderung, die VC-Gehaltserhöhung, verstärkt wird.

Den Beweis für diese Deutung liefern wiederum unsere Versuche an Gewebeschnitten, wenn wir jetzt die Werte bei abnehmender Intensität der AS-Bildung vom VC-Maximum, also bei 25° C von der 48. Stunde ab berücksichtigen. Der AS-Gehalt vermindert sich dabei, aber zunächst wird mehr AS zu DAS oxydiert und DAS abgebaut, bis sich zwischen den drei Teilvorgängen wieder ein Gleichgewicht

einspielt. Der VC-Gehalt wird daher sogleich absinken, ebenfalls der DAS-Gehalt, doch dieser langsamer, so daß der Quotient zunächst kleiner wird. Das heißt, der DAS-Gehalt nimmt relativ zu und absolut ab (Tabelle 7A, Reihe 1 bis 4).

Bei 7,5° C müßte nun entsprechend unserer Hypothese der Vorgang B_2 sich stärker verlangsamen als Vorgang B_1, es müßte also mit absinkender Intensität zunächst weniger DAS abgebaut werden als bei 25° C, so daß der DAS-Gehalt sowohl quantitativ wie relativ anwächst. Tabelle 7B, Reihe 3 und 4, zeigt, daß die Überlegung zutrifft.

Während also bei 25° C der DAS-Gehalt vom VC-Maximum ab quantitativ sofort absinkt, steigt er bei 7,5° C anfangs noch an. Zwischen diesen beiden Temperaturen muß es nun eine geben, bei der die DAS-Werte während der ersten Zeit nach dem VC-Maximum immer annähernd gleich groß sein sollten, weil bei der sich ständig ändernden Gleichgewichtseinstellung stets ungefähr soviel DAS abgebaut wird, wie AS bei nachlassender AS-Bildung zu DAS oxydiert wird. Dieser Fall ist etwa bei 15° C erreicht. Wie die Tabelle 8B, Reihe 3 (s. S. 365) ausweist, schwanken die DAS-Werte vom VC-Maximum in der Stunde 146 ab um einen Wert von 6,50 mg-%, halten sich also auf etwa gleicher Höhe. Die Abb. 9 gibt den Sachverhalt für die drei Temperaturen im Schema wieder. Der Quotient AS:DAS wird freilich in jedem Falle zunächst kleiner, d. h. der DAS-Gehalt steigt relativ an. Erst wenn die Intensität der AS-Bildung sich stärker vermindert hat und das Gesamtgleichgewicht sich wieder einspielt, wird auch der DAS-Gehalt bei allen genannten Temperaturen allmählich absinken. Schließlich wird die Intensität der AS-Bildung wieder konstant werden und der Quotient den Anfangswert erreichen. In unseren Versuchen wird dieser Zustand indessen nicht eintreten, weil die Gewebeschnitte unter den gegebenen Bedingungen auf die Dauer nicht lebensfähig sind und in ein prämortales Stadium gelangen, in dem es zumeist zu einem Anstieg des DAS-Gehaltes kommt. Damit geht der Quotient gegen Null und der VC-Gehalt sinkt rapide ab.

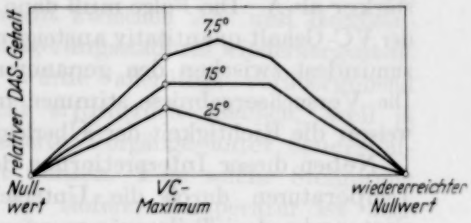

Abb. 9. Schematische Darstellung der Veränderungen der DAS-Werte von Gewebeschnitten aus Kartoffelknollen bei verschiedenen Temperaturen

Wir können aber aus den Veränderungen der DAS-Werte bei 25°, 15° und 7,5° C, solange die Intensität der AS-Bildung sich vermindert (Abb. 9), den Schluß ziehen, daß in der Tat auch der Vorgang B_2 stärker verlangsamt wird als der Vorgang B_1. Dieser Schluß wird weiterhin durch den Befund bestätigt, den wir oben beim Studium des Abbauvorganges an reinen AS-Lösungen und Kartoffelpreßsaft in Abhängigkeit

von der Temperatur erhoben hatten (s. S. 359, Abb. 5B bis D). Denn dort hatte sich gezeigt, daß bei den genannten Lösungen und Preßsäften unter Zusatz von Oxydationsschutzmitteln der AS-Gehalt bei 25° C prozentual weniger abnahm als der VC-Gehalt, d. h. der Abbau der DAS verlief bei 25° C rascher als die Oxydation von AS zu DAS. Bei 7,5° C liegen die Verhältnisse umgekehrt.

Somit ergibt sich nun folgendes Bild: Die Temperaturkoeffizienten der Vorgänge A, B_1 und B_2 müssen verschieden groß sein. Und zwar muß der Koeffizient von B_2 größer sein als der von B_1, beide aber größer als der von A. Das bedeutet also, daß mit sinkender Temperatur sich alle drei Vorgänge verlangsamen, B_2 aber stärker als B_1 und A, B_1 wieder stärker als A. Die Folge muß dann sein, daß mit sinkender Temperatur der VC-Gehalt quantitativ ansteigt und der DAS-Gehalt relativ anwächst zumindest zwischen den genannten Temperaturen von 25 bis 7,5° C. Die Versuchsergebnisse stimmen mit der Hypothese überein und beweisen die Richtigkeit der Überlegung.

Neben dieser Interpretierung der VC-Gehaltserhöhung bei tieferen Temperaturen durch die Unterschiedlichkeit der Temperaturkoeffizienten der drei Teilvorgänge wäre freilich noch eine weitere Deutung möglich. Seit den Untersuchungen von MÜLLER-THURGAU (1882) ist bekannt, daß mit absinkender Temperatur der Zuckergehalt infolge zunehmender Stärkehydrolyse bei vielen Pflanzenorganen ansteigt. In der Tat hat nun BARKER (1950) bei Kartoffelknollen eine Relation zwischen den Gehalten an Rohrzucker und AS gefunden. Danach gehen hohe AS-Gehalte mit hohen Gehalten an Rohrzucker einher und umgekehrt. Das könnte zu der Ansicht führen, daß der Rohrzucker in Beziehung zur AS-Synthese stünde. Nun haben aber MAPSON und Mitarb. (1949) gefunden, daß nicht Rohrzucker sondern Hexosen, insbesondere Glucose, als Ausgangsmaterial der AS-Synthese wenigstens bei Kressekeimlingen dienen. BARKER (1950) beobachtete ferner, daß bei Kartoffeln der Hexosengehalt bei Entnahme der Knollen aus dem Boden um so geringer war, je höher der AS-Gehalt befunden wurde. Bei anschließender Lagerung der Knollen über 8 bis 11 Monate bei 10° C indessen fielen zwar die AS-Gehalte ab, der Hexosengehalt aber verhielt sich umgekehrt, er stieg ebenso an, wie der AS-Gehalt abfiel, und nahm dann etwa von März an sehr allmählich ab. Daraus könnte geschlossen werden, daß die Hexosen, solange die Knollen mit der Mutterpflanze verbunden sind, zur AS-Synthese verwendet werden, zumal nach BARKER in dieser Zeit (Juli—August) der AS-Gehalt in den Knollen ansteigt. Das weitere Anwachsen des Hexosengehaltes während der Lagerung, wobei Glucose und Fructose in etwa gleichen Mengen angetroffen werden, bedingt jedoch offenbar keine Steigerung des AS-Gehaltes. Es kann daher auch nicht eine einfache Beziehung zwischen den

Konzentrationen an AS und an Hexosen zumindest während der Zeit der Lagerung der Knollen angenommen werden. Vielmehr scheint es zu einer Umkehr der Verhältnisse zu kommen, indem mit absinkendem AS-Gehalt der Gehalt an Hexosen zunächst (bis März) ansteigt. Ein etwa bestehendes Gleichgewicht zwischen den beiden Substanzen müßte sich also während der Lagerung aus noch nicht verständlichen Gründen fortgesetzt nach der Seite der Hexosen verschieben. Trotz dieser merkwürdigen Verschiebung könnte eine plötzliche Erhöhung der Konzentration an Hexosen durch die infolge der tieferen Temperatur ausgelöste vermehrte Umwandlung von Stärke und Rohrzucker dann das Gleichgewicht stören und eine erhöhte AS-Bildung solange bewirken, bis das Gleichgewicht zwischen AS- und Hexosengehalt entsprechend dem jeweiligen Lagerungsstadium wiederhergestellt wäre. Diese erhöhte AS-Bildung würde allerdings vorübergehend eine verstärkte Stoffwechselaktivität erforderlich machen, weil ja die Hexosen über fermentativ gesteuerte Vorgänge unter Sauerstoffverbrauch in die AS umgewandelt werden. Eine solche Steigerung des Stoffwechselgeschehens gerade bei tieferer Temperatur ist aber nicht anzunehmen. Im Gegenteil hat Rosenstock (1951) gezeigt, daß bei Kartoffelgewebeschnitten die Dunkelatmung um so geringer ist, je tiefere Temperaturen einwirken, und er hat zwischen 10 und 30° C einen Wert $Q_{10} = 2$ ermittelt.

Nach unserer oben gegebenen Interpretierung der VC-Gehaltserhöhung durch unterschiedliche Verlangsamung der Aufbau- und Abbauvorgänge ist aber keine Steigerung der Stoffwechselaktivität notwendig, sondern die Erhöhung des VC-Gehaltes ergibt sich bei gleichzeitiger Verminderung der Stoffwechselaktivität. Wir halten es daher für wenig wahrscheinlich, daß diese Erhöhung durch eine *quantitative* Steigerung der AS-Bildung bewirkt wird, sondern sehen die Ursache in einer *relativen* Vermehrung des AS-Gehaltes und damit des VC-Gehaltes durch stärkere Verlangsamung des VC-Abbaues. Die Beobachtung von Åberg (1949) an Tomatenblättern, die auf Wasser schwimmend im Dunklen bei 5 und 15° C einen steigenden AS-Gehalt aufwiesen im Gegensatz zu solchen bei 25° C, wobei die Zunahme bei 5° C größer war als bei 15° C, möchten wir daher (entgegen der Deutung von Åberg) nicht mit der durch die Zunahme der Stärkehydrolyse ausgelösten Konzentrationserhöhung an Zuckern erklären. Vielmehr sind wir der Ansicht, daß auch hier die unterschiedlichen Temperaturkoeffizienten für VC-Aufbau und Abbau die primäre Ursache des Anwachsens des AS-Gehaltes sind. Mit dem Verbrauch der durch Stärkehydrolyse entstandenen Zucker in den infolge Verdunkelung an der Photosynthese verhinderten Tomatenblättern wird dann natürlich auch der AS-Gehalt, wie gleichfalls aus den Angaben von Åberg hervorgeht, wieder absinken.

Die Erhöhung der Zuckerkonzentration bei tieferer Temperatur hat somit nach unserer Ansicht nur eine sekundäre Wirkung.

Eine weitere Erklärung des erhöhten VC-Gehaltes bei tieferen Temperaturen könnte schließlich in einer Änderung der Fermentaktivitäten gesucht werden. Die Fermentaktivität ist bekanntlich in erster Linie vom p_H des Mediums abhängig. Es ist nun beobachtet worden, daß bei succulenten Pflanzen wie *Sedum*- und *Bryophyllum*arten diurnal, d. h. im Tag-Nacht-Wechsel, jeweils im Dunklen die Bildung von Äpfel- und Citronensäure mit abnehmender Temperatur als Folge einer erhöhten CO_2-Fixierung stark gefördert wird (JAMES 1953). Ob diese Erscheinung, die zwar weit verbreitet auch bei nicht succulenten Pflanzen auftritt (PAECH 1950), allerdings allgemein gilt und nicht nur diurnal erfolgt, ist noch nicht nachgewiesen worden. Die Erhöhung des VC-Gehaltes, also der AS selbst, könnte hier im gleichen Sinne einbezogen werden. Die Folge derartiger Erhöhungen des Säuregehaltes ist dann natürlich eine Verschiebung des p_H-Wertes des Zellsaftes nach der sauren Seite. Allerdings dürfte eine erhebliche Verschiebung des p_H-Wertes eben nur auf die Vacuole beschränkt sein, da für die Acidität des Plasmas auch bei sehr sauren Zellsäften ein p_H-Wert von 5—6 ermittelt wurde. Der Tonoplast ist nämlich durch eine besondere Resistenz gegen hohe Wasserstoffionenkonzentration gekennzeichnet. Trotzdem muß aber angenommen werden, daß die Säuremoleküle nicht minder ins Plasma gelangen und dort auch dissoziieren, wie sie ja umgekehrt in diesem gebildet werden. Dann könnte im Plasma eine, wenn auch geringfügige, Änderung des p_H-Wertes eintreten, die unter Umständen eine erhöhte oder verminderte Aktivität einiger Fermente bedingt. So ist z. B. das p_H-Optimum der fermentativen Oxydation der AS durch Ascorbinase bekannt. Es liegt bei p_H 5,6—6,1 (SCHULTE und SCHILLINGER 1952). Bei einer Erhöhung der Acidität des Plasmas könnte also, sofern Ascorbinase vorhanden ist, die AS-Oxydation vermindert werden. In Blättern kommt Ascorbinase zwar häufig vor, fehlt aber z. B. in Kartoffelknollen (WACHHOLDER 1942). Für eine derartige Erklärung wäre freilich die Kenntnis aller an der AS-Bildung beteiligten Fermente und deren Aktivitätskurven sowie der Nachweis der p_H-Wertverschiebung im Plasma notwendig. Das ist jedoch zur Zeit noch nicht möglich, die Deutung ist somit rein spekulativ.

Zusammenfassend können wir also sagen: Erniedrigung der Temperatur hat eine Erhöhung des VC-Gehaltes zur Folge. Die Ursachen dafür werden in der Unterschiedlichkeit der Temperaturkoeffizienten für die Vorgänge der VC-Bildung und des VC-Abbaues gesehen. Die AS-Bildung wird dadurch relativ erhöht gegenüber der AS-Oxydation zu DAS und dem DAS-Abbau, woraus eine quantitative Steigerung des VC-Gehaltes resultiert. Die Abbauvorgänge stellen sich im weiteren Verlauf wieder in ein Gleichgewicht mit den Aufbauvorgängen ein. Am Beispiel der Gewebeschnitte an Kartoffeln bei denen infolge der Verletzung zunächst eine allmählich steigende Zunahme der Atmungsintensität und damit der AS-Bildung eintritt, kann modellmäßig die Einstellung der Gleichgewichte zwischen den Teilvorgängen A, B_1 und B_2 beobachtet werden, die normalerweise bei einmaligem, plötzlichen Wechsel der Temperatur vermutlich ziemlich rasch erfolgen dürfte. Eine Erklärung dieses Temperatureffektes durch die mit absinkender Temperatur ansteigende Stärkehydrolyse und die damit verbundene Erhöhung der Hexosen-

konzentration als alleiniger oder primärer Ursache wird für unwahrscheinlich gehalten. Denn dazu wäre eine quantitative Steigerung des Stoffwechsels bei absinkender Temperatur erforderlich. Bei der Erklärung durch die Unterschiedlichkeit der Temperaturkoeffizienten für VC-Aufbau und VC-Abbau ist eine solche Stoffwechselsteigerung nicht notwendig, weil sich die AS-Bildung nur relativ in bezug auf den VC-Abbau erhöht. Eine fördernde, aber sekundäre Wirkung durch vermehrte Stärkehydrolyse kann jedoch darin gesehen werden, daß etwa absinkende Hexosereserven zeitweilig erhöht werden. Dadurch kann ein durch andere Bedingungen verursachtes Absinken des VC-Gehaltes wie z. B. bei abgeschnittenen Blättern hinausgezögert werden. Die Möglichkeit, daß die Verschiebung des p_H-Wertes in den Zellen dank erhöhter Säurenbildung infolge tieferer Temperatur die Fermentaktivitäten fördert, wird diskutiert.

Der Nachweis, daß der VC-Gehalt in der Tat mit sinkender Temperatur ansteigt, erklärt die Beobachtungen, die in der Literatur erwähnt werden, und ergänzt die Kenntnisse über die Physiologie der VC-Bildung in ihrer Abhängigkeit von Außenfaktoren.

B. Der Vitamin-C-Gehalt gelagerter Pflanzenteile in Abhängigkeit von der Temperatur, insbesondere bei Kartoffelknollen

I. Problemstellung

In unseren oben dargelegten Versuchen hatten wir die Wirkung der Temperatur auf den VC-Gehalt an Gewebeschnitten untersucht. An unverletzten Pflanzen oder Organen lassen sich im Prinzip die gleichen Beobachtungen anstellen. So ist z. B. die Angabe von GURMAZA (1954), daß Kartoffelknollen in Böden mit Bodentemperaturen zwischen 25 bis 40° C weniger VC enthielten als solche in Böden mit einer Bodentemperatur unter 25° C, nach unseren Ausführungen durchaus verständlich. Solange die Knollen oder andere Organe mit ihren Mutterpflanzen in Verbindung sind, werden die VC-Bildungs- und Abbauvorgänge wie überhaupt der gesamte Stoffwechsel und der damit verbundene Stofftransport ungestört ablaufen.

Nicht weniger bedeutend ist die Frage nach dem VC-Gehalt abgetrennter, d. h. geernteter Organe, die zum Zwecke der menschlichen Ernährung gelagert werden. Hierbei kommt es in mehrfacher Hinsicht auf die Erhaltung der Nährwerte an, und die Temperatur spielt bekanntlich bei der Lagerung von Obst und Gemüse eine ausschlaggebende Rolle. Wenn nun tiefere Temperaturen eine Erhöhung des VC-Gehaltes bewirken, so würde also bei einer Kaltlagerung nicht nur die Gefahr einer Zerstörung der Gewebe etwa durch Fäulnis verringert oder die Verminderung des Kohlenhydratgehaltes durch Veratmung gehemmt, sondern auch der VC-Gehalt vorteilhaft erhalten werden, sofern bei

solchen abgetrennten Teilen eine VC-Bildung auch nach der Trennung von der Mutterpflanze möglich ist. Mit Rücksicht darauf müssen wir allerdings von vornherein zwei Kategorien unterscheiden.

Zum einen werden Organe gelagert werden, die in der Natur früher oder später einer Zersetzung anheimfallen, zum anderen solche, die erhalten bleiben und natürlicherweise z. B. den Winter überdauern, um im folgenden Jahre neue Sprosse und Wurzeln zu bilden oder in die reproduktive Phase einzutreten. Bei den ersteren, z. B. Blättern, Sprossen und Früchten, werden die normalen Lebenstätigkeiten bald aussetzen, bei den letzteren aber über die gesamte Lagerzeit erhalten bleiben, z. B. bei Samen, Knollen und Wurzeln. Bei Blättern, Sprossen und Früchten wird, da sie ihre Funktion erfüllt haben oder nicht mehr erfüllen können, infolgedessen auch bald die Atmung zum Erliegen kommen. Damit fällt der Vorgang der AS-Bildung früher oder später aus. Die zweckmäßige Lagerung solcher Organe kann daher im wesentlichen nur der Erhaltung des bei der Ernte vorhandenen VC-Gehaltes dienen. In jedem Falle wird freilich der VC-Gehalt absinken und zwar um so stärker, je höher die Lagertemperaturen sind. Denn von den drei Teilvorgängen A, B_1 und B_2 bleiben vor allem die beiden letzteren in Tätigkeit, so daß vorzugsweise ein Abbau stattfindet. Sollten die von uns gefundenen Regeln gelten, so müßte der VC-Gehalt bei tieferen Temperaturen wesentlich langsamer absinken. Das Verhältnis AS:DAS würde sich aber nach der Seite der DAS verschieben. Versuche von PAECH (1939a) über die Veränderungen des VC-Gehaltes bei Bohnen und anderen Gemüsen und Obst in Abhängigkeit von der Temperatur bestätigen unsere Überlegung. Da PAECH leider nur die AS-Werte bestimmt hat, ist über das Verhältnis AS:DAS zunächst nichts auszusagen. Weitere Untersuchungen müßten dazu angestellt werden. In unseren Versuchen an Gewebeschnitten hatten wir aber schon auf das Absinken des Quotienten beim Eintritt in ein prämortales Stadium hingewiesen.

Bei unserer zweiten Kategorie müssen wir wiederum unterteilen. Samen, die ja ausgesprochene Überdauerungsorgane sind, besitzen im allgemeinen sehr wenig VC. MEDAWARA (1950) konnte darüber hinaus zeigen, daß reifende Samen in der Tat ihren VC-Gehalt fortgesetzt vermindern, was aus der allmählichen Reduktion aller Lebenstätigkeiten, also auch der Atmung, zu verstehen ist. Während der Trockenruhe ist das Leben der Samen auf eine ganz geringe Intensität beschränkt, und erst mit der Keimung lebt die physiologische Aktivität wieder auf. Möglicherweise liegt das auch während der Samenruhe vorhandene VC weitgehend als DAS vor. Die meisten Untersuchungen über den VC-Gehalt der Samen beschränkten sich nämlich auf die Ermittelung lediglich des AS-Gehaltes. Eigene Bestimmungen und Angaben von

Seybold und Mehner (1948, S. 104) sprechen für ein Überwiegen des DAS-Anteiles. Jedoch soll nicht verhehlt werden, daß die Bestimmung des VC-Gehaltes von Samen durch deren erheblichen mechanischen Widerstand mit einer meist längeren Aufarbeitungsdauer bei der Analyse verbunden ist. In dieser Zeit können aber die in der Regel reich vorhandenen Oxydasen einen Teil der AS zu DAS oxydieren. Daß mit einsetzender Keimung dann auch VC in verstärktem Maße gebildet wird, ist schon beschrieben worden (Franke 1954).

Knollen und Wurzeln dagegen sind Überdauerungsorgane, die eine gut meßbare Atmung besitzen und daher auch im Ruhestand noch VC zu bilden vermögen. Die Vermutung, daß VC-Bildung auch nach dem Abtrennen der Organe von der Mutterpflanze möglich ist, wurde zuerst von Olliver (1936) ausgesprochen. Sie hatte an nachreifendem Obst einen viel geringeren Schwund an VC beobachtet als an ausgereiften Früchten. Für Kartoffeln dürfen wir heute mit Sicherheit diese Fähigkeit, VC nach der Abtrennung von der Pflanze zu bilden, annehmen, da Barker und Mapson (1950) an gelagerten reifen und unreifen Knollen beobachteten, daß bei Temperaturen zwischen $+1^0$ und $-0{,}8^0$ C im ersten Monat nach der Ernte ihr VC-Gehalt zunahm und zwar um so mehr, je tiefer die Temperatur war. Es liegt nahe, daß auch andere Knollen und Wurzeln dank ihrer Lebenstätigkeit und Atmung in der Lage sind, nach dem Abtrennen von der Mutterpflanze VC zu bilden. Nicht minder gilt dies für nachreifende Früchte, die bis zur Reife insoweit zu dieser zweiten Kategorie zu zählen sind.

In allen diesen Fällen ist also anzunehmen, daß dank der anhaltenden, wenn auch geringeren Stoffwechseltätigkeit, der VC-Gehalt in bestimmter Höhe erhalten bleibt. Für Kartoffelknollen ist es schon seit langem bekannt, daß der VC-Gehalt zwar während der Lagerung absinkt, jedoch nicht völlig verlorengeht. Hinsichtlich der Wirkung der Lagertemperatur auf den VC-Gehalt von Kartoffeln, die von Barker und Mapson (1950) bereits untersucht wurde, ergibt sich jedoch zu den von uns gefundenen Regeln, wonach bei tieferen Temperaturen größere VC-Gehalte zu erwarten sind, eine Diskrepanz. Die beiden Autoren haben nämlich festgestellt, daß der VC-Gehalt der Knollen bei $+5^0$, $+1^0$ C und noch tieferen Temperaturen nicht größer ist als bei $+10^0$ C. Auf Grund dieser widersprechenden Angaben erschien es uns geboten, die Veränderungen des VC-Gehaltes bei gelagerten Kartoffeln in Abhängigkeit von der Temperatur erneut zu prüfen.

II. Versuche und ihre Ergebnisse

Kartoffeln der Sorte Ackersegen wurden bei 4^0, $7{,}5^0$ und 20^0 C konstant gelagert sowie in einem Keller, der für die Aufbewahrung von Haushaltkartoffeln benützt wird, dessen Temperatur aber den Schwankungen der Außentemperatur in bestimmtem Grade nachfolgt. Proben aus allen vier Lagerräumen wurden im Abstand

von 8 bis 10 Tagen nach der TEE-Methode (FRANKE 1955a) vom Beginn der Ernte an bis Anfang Mai auf ihren VC-Gehalt geprüft. Die Werte wurden dabei in allen Fällen auf das Trockengewicht bezogen, weil sich das Frischgewicht in einigen Lagerräumen im Verlaufe der Lagerzeit verminderte.

Die Veränderungen des VC-Gehaltes der Knollen sind in Abb. 10 wiedergegeben. Sie stimmen im allgemeinen mit den bereits seit langem bekannten Tatsachen überein (PETT 1936, WACHHOLDER 1938, LUND 1940, SCHEUNERT und Mitarb. 1940, SMITH und GILLIES 1940, FELLENBERG und WUHRMANN 1942 und BARKER und MAPSON 1950). Der VC-Gehalt sinkt nämlich in den ersten Wochen nach der Ernte ziemlich stark, dann aber immer weniger ab, bis die Kurve sich asymptotisch einer Geraden nähert. Die Einzelwerte mögen dabei dank der Individualität der Knollen etwas schwanken. Im Januar—Februar ist der VC-Gehalt nur noch etwa halb so groß wie bei der Ernte. Der im Mai erreichte Wert bleibt dann über viele Wochen annähernd konstant. BARKER und MAPSON bezeichnen dieses Niveau als „basal level". Möglicherweise entspricht dieser VC-Gehalt dem im physiologischen Minimum, doch soll diese Frage vorerst offen bleiben. Erst mit dem Verfall der Organe sinkt der VC-Gehalt dann weiter ab.

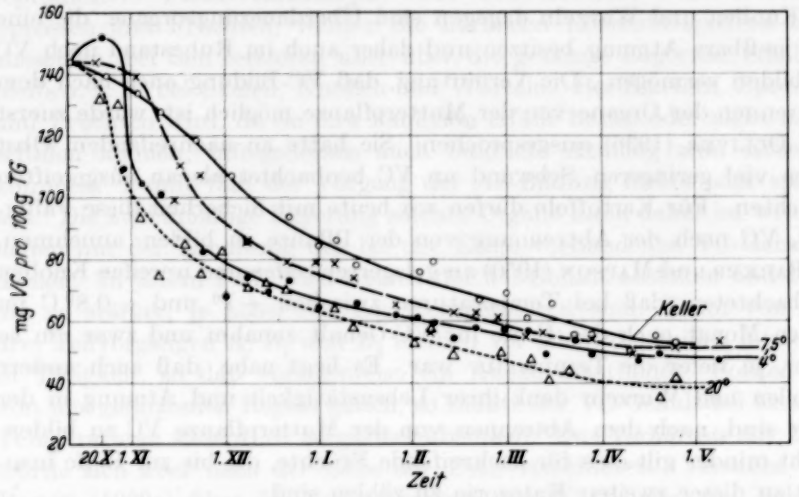

Abb. 10. Veränderungen des VC-Gehaltes gelagerter Kartoffeln der Sorte Ackersegen bei verschiedenen Lagertemperaturen von Oktober bis Mai. Die Werte sind auf das Trockengewicht bezogen

Berücksichtigen wir nun den Einfluß der jeweiligen Lagertemperatur auf den VC-Gehalt, so ist unserer Regel entsprechend zu erwarten, daß der VC-Gehalt um so größer sein sollte, je tiefer die Lagertemperatur ist. Aus Abb. 10 wird deutlich, daß der VC-Verlust bei 20° C in der Tat größer ist als bei 7,5 und 4° C. Bemerkenswert ist jedoch die Kurve

für die VC-Gehalte der im Keller gelagerten Knollen. Der Abfall verläuft hier vor allem zum Beginn viel weniger rasch, obwohl auch diese Kurve Anfang Mai „the basal level" erreicht. Möglicherweise sorgt der im Keller häufigere Temperaturwechsel für eine fortgesetzte Störung der Gleichgewichtsverhältnisse der Auf- und Abbauvorgänge, so daß der VC-Gehalt als Resultante beider Vorgänge größer ist als bei konstanten Temperaturen. Auffallend ist bei den Knollen dieses Lagerraumes nämlich, daß das später noch näher zu erörternde Verhältnis AS:DAS bei den Einzelanalysen so stark schwankt, daß sich kaum eine einheitliche Kurve aus den Werten gewinnen läßt (s. Abb. 11 A). Doch sinken die Quotienten niemals unter den Wert 2,2 und bewegen sich meist um den Wert 3. Ob eine Lagerung in solchen Kellerräumen regelmäßig die günstigste ist und inwieweit ein solcher Raum auch für die Konservierung anderer Qualitäten der Knollen geeignet ist, bedarf allerdings noch der Nachprüfung.

Der erheblichere VC-Verlust bei 20° C ist aus der relativ größeren Beschleunigung der Abbauvorgänge wohl verständlich. Umgekehrt erklärt sich der höhere VC-Gehalt bei 7,5° C aus der stärkeren Verlangsamung der Abbauvorgänge bzw. der relativ geringeren der AS-Bildung.

Bei 4° C hingegen liegt der durchschnittliche VC-Gehalt zwischen dem bei 20 und 7,5° C. Das widerspricht der Erwartung, stimmt aber überein mit den Angaben von Barker und Mapson (1950). Diese Abweichung bedarf daher einer Erklärung, denn der VC-Gehalt sollte größer sein als bei 7,5° C. Nun hat Barker (1933) an Kartoffelknollen eine Depression der Atmungsintensität bei tiefen Temperaturen (um + 1° C) beobachtet und dafür die Ansammlung eines Hemmstoffes verantwortlich gemacht, dessen Wirkung er bei Übertragung der Knollen in höhere Temperaturen demonstrieren konnte. Dieser Atmungshemmstoff soll überhaupt erst bei tieferen Temperaturen gebildet werden (vgl. Paech 1939 b). Besonders verwickelte Verhältnisse sollen sich zwischen + 1° und + 3° C ergeben. Weiterhin zeigen Analysendaten von Wright (1932), daß die CO_2-Abgabe von Kartoffelknollen bei + 2,2° meist höher als bei 0°, aber auch als bei 4,4° C ist. Demnach herrschen bei einer Temperatur unterhalb + 5° C offenbar besondere Atmungsverhältnisse, so daß auch nicht die Regeln für die AS-Bildung in Abhängigkeit von der Temperatur gelten mögen, wie wir sie für Temperaturen über + 5° C ermittelt haben. Dieses Problem bedarf noch der Bearbeitung, wir begnügen uns vorerst mit der Feststellung der Tatsache.

Unsere Ergebnisse stimmen also mit den Angaben von Barker und Mapson überein und bestätigen diese. Die übrigen Analysenergebnisse der Autoren an gelagerten Kartoffeln in Abhängigkeit von der Lagertemperatur stehen nicht minder in Einklang mit unseren Beobachtungen.

So besaßen bei 10° C gelagerte Knollen einen höheren AS-Gehalt als solche bei 25° C. Freilich versuchen die beiden Forscher kaum eine Deutung ihrer Ergebnisse und beschränken sich auf die Wiedergabe ihrer Daten. Nach unserer Theorie aber lassen sich diese Angaben erklären. Auch der von ihnen beobachtete Anstieg des AS-Gehaltes beim plötzlichen Wechsel der Lagertemperatur von + 10° C auf tiefere Temperaturen wie +1°, —0,6° und —0,8° C, wobei der Anstieg um so größer war, eine je tiefere sekundäre Temperatur gewählt wurde, erscheint uns nach unseren Erkenntnissen verständlich. Denn die stärkere Verlangsamung der Abbauvorgänge und die relative Steigerung der AS-Bildung bewirken eben einen Anstieg des AS-Gehaltes. Leider haben die Verfasser den jeweiligen DAS-Gehalt bzw. den VC-Gehalt nicht ermittelt oder nicht angegeben, obwohl sie dem Verhältnis AS:DAS ebenfalls Bedeutung beimessen. Den starken AS-Gehaltsanstieg bei den Temperaturwechselversuchen bringen die Autoren mit der Erhöhung des Zuckergehaltes in Verbindung. Ohne Zweifel wirkt in diesem Falle die Anreicherung der Zuckerkonzentration durch vermehrte Stärkehydrolyse gleichfalls fördernd auf die AS-Bildung ein, doch ist diese Wirkung nur sekundär. Sobald nämlich der Vorrat an Zuckern verbraucht ist, fällt der AS-Gehalt wieder und sinkt, da es sich um Temperaturen unter + 5° C handelt, unter das Niveau der bei 10° C gelagerten Kartoffeln ab. Das heißt, die besonderen Verhältnisse in diesem Temperaturbereich machen sich geltend.

Zum Schluß sei noch darauf hingewiesen, daß der VC-Gehalt der bei 20° C gelagerten Knollen von Mitte Februar an unter „the basal level" sinkt. Auch der Quotient AS:DAS fällt schließlich ab, d. h. der DAS-Gehalt nimmt zu. Dies hängt offenbar mit dem Eintrocknen der stark geschrumpften Knollen zusammen.

Zusammenfassend stellen wir fest, daß die Wirkung der Temperatur auf den VC-Gehalt gelagerter Kartoffeln die gleiche ist, wie sie für Gewebeschnitte beschrieben worden ist. Lediglich bei Temperaturen unter + 5° C treten Abweichungen auf, die mit besonderen Stoffwechselverhältnissen zusammenhängen und zur Folge haben, daß der VC-Gehalt nicht größer wird als bei Temperaturen über + 5° C. Die Knollen in schwankend temperiertem Raum weisen einen höheren VC-Gehalt auf als die in Räumen mit konstanter Temperatur.

C. Das Verhältnis Ascorbinsäure zu Dehydroascorbinsäure

I. Problemstellung

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit hatten wir die Abhängigkeit des VC-Gehaltes von der Temperatur an Gewebeschnitten untersucht und dabei das Verhältnis AS:DAS und dessen Wert als eine wichtige Größe für das Verständnis der Teilvorgänge kennengelernt. In diesem Zusammenhang hatten wir freilich nur die Vorgänge berücksichtigt, die sich auf die Höhe des VC-Gehaltes auswirken, und die steigende AS-Bildung aus biochemischen Gründen auf die erhöhte Atmung zurückgeführt. Physiologisch bedeutsam erscheint es nun aber, daß dieser Vorgang einem Regenerationsgeschehen parallel geht, bei dem durch die Atmung Energien freigesetzt werden, die ohne Zweifel auch der

Bildung anderer energiereicher, für die Regeneration notwendiger Stoffe dienen können. Es fragt sich daher, ob die AS-Bildung ausschließlich eine Folgeerscheinung der Atmung und das VC nur ein Nebenprodukt dieses Gesamtgeschehens ist oder ob dem VC hierbei etwa auch eine spezielle physiologische Bedeutung zukommt.

Es sind nämlich weitere Fälle bekannt, bei denen sich mit der Intensivierung des Stoffwechsels auch eine Steigerung des AS-Gehaltes verbindet. So erhöht sich bei keimenden Samen der AS-Gehalt annähernd parallel zur Atmung (Franke 1954). Aber auch bei gelagerten Pflanzenteilen ändert sich der Stoffwechsel und mit ihm der VC-Gehalt. Von nachreifenden Früchten ist zum Beispiel bekannt, daß die Atmungsintensität nach der Ernte zunächst absinkt, dann jedoch in der sog. klimakteriellen Phase, die der Genußreife vorangeht, wieder erheblich ansteigt, um dann endgültig abzufallen. Mit diesem Wechsel der Atmungsintensität sind in der Regel weitere Stoffwechselvorgänge verknüpft. So ist oft eine Verfärbung der Hautgewebe nach gelb und rot zu beobachten. Bei nachreifenden Äpfeln geht mit dem klimakterischen Atmungsanstieg zunehmende Äthylenausscheidung einher (Hilkenbäumer und Buchloh 1955). Aber auch der VC-Gehalt kann davon betroffen werden. So setzt bei Tomaten mit Beginn des Atmungsanstieges das Gelbwerden der Früchte ein, das bis zum Maximum der Atmungsintensität zur ersten Rötung führt. Gleichzeitig steigt aber auch der VC-Gehalt bis zur beginnenden Rotreife an und sinkt mit der Rotvollreife parallel zur Verminderung der Atmungsintensität wieder etwas ab (Damansky und Mitarb. 1952). Daß tiefere Temperaturen bei Tomaten höhere VC-Gehalte bedingen, war in den Untersuchungen von Sayre und Mitarb. (1953) erwiesen worden. Es gelten also die gleichen Regeln, wie wir sie aus unseren Versuchen abgeleitet haben.

In allen diesen Fällen ist nichts bekannt darüber, ob sich auch das Verhältnis AS:DAS verändert. Wenn wir nun eigene frühere Versuche an gelagerten Kartoffeln durchsehen, so fällt es auf, daß der AS- und der DAS-Anteil durchaus nicht konstant bleiben. Aus der Tabelle 9 geht hervor, daß der Quotient von der Ernte an zuerst absinkt, gegen das Frühjahr zu aber wieder ansteigt, d. h. der AS-Anteil erhöht sich relativ.

Eine Deutung dieser zufällig gewonnenen Beobachtung kann von der Tatsache ausgehen, daß die Kartoffel als Überdauerungsorgan normalerweise im Frühjahr austreibt und neue Pflanzen bildet. Diese Sproßbildung aus den Augen heraus ist das morphologisch sichtbare Ergebnis eines schon vorher einsetzenden Aktivitätswechsels, der in vermehrter Stärkehydrolyse und der Mobilisierung des für die Entwicklung neuer Pflanzen notwendigen Fermentapparates besteht. Daß beim Austreiben der Augen ein Anstieg des AS-Gehaltes zu beobachten sei, berichtet Pett (1936). Allerdings ist bei der Beurteilung dieser

Tabelle 9. *Das Verhältnis AS: DAS bei gelagerten Kartoffeln während der Winterruhe*

A. 1953/54			B. 1954/55		
Tag der Analyse	AS:DAS	Lagerungsdauer (Monate)	Tag der Analyse	AS:DAS	Lagerungsdauer (Monate)
15. 10.	3,27	0	5. 10.	2,23	0,2
26. 10.	2,31	0,3	11. 10.	2,56	0,4
17. 11.	3,10	1	18. 10.	2,22	0,6
23. 11.	1,94	1,3	2. 11.	2,24	1
22. 1.	0,93	3,3	1. 3.	4,30	5
27. 1.	1,83	3,5	3. 5.	3,10	7
3. 2.	2,14	3,6			
3. 3.	2,30	4,6			
3. 3.	2,47	4,6			
9. 3.	4,34	4,8			
16. 3.	3,27	5			

Angaben insofern Vorsicht geboten, als PETT seine Knollen vor Beginn seiner mehrtägigen Versuche halbierte und damit einen Wundreiz setzte, der ja an sich schon eine Erhöhung der AS-Bildung bewirkt. In unseren VC-Bestimmungen haben wir keine quantitative Erhöhung des VC-Gehaltes, wohl aber eine relative des AS-Gehaltes festgestellt. Die Verschiebung des Verhältnisses AS:DAS nach der Seite der AS spricht aber dafür, daß Veränderungen in der Knolle eingetreten sein müssen, die entweder durch eine Verminderung des DAS-Anteiles etwa durch die Wirkung einer DAS-Reduktase oder durch eine relative Steigerung des AS-Anteiles infolge verringerter Oxydation von AS zu DAS bedingt sind. In unserem Falle (Tabelle 9) kann die Steigerung des AS-Anteils möglicherweise durch eine schwache Temperaturerhöhung erfolgt sein, da die Knollen damals nicht durchgehend bei einheitlicher Temperatur gelagert worden waren, sondern in einem Keller, der die Schwankungen der Außentemperatur in einem gewissen Ausmaß mitmacht.

Auf Grund der genannten Beobachtungen erscheint uns das Verhältnis AS:DAS bedeutsam. Im folgenden soll daher versucht werden zu klären, ob diese Veränderungen bei Knollen, die in gleichbleibenden Temperaturen gelagert werden, ebenfalls auftreten und wie diese Erscheinung gedeutet werden kann.

II. Versuche und Ergebnisse

Zur Ermittelung des Verhältnisses AS:DAS bei gelagerten Kartoffeln wurden die Ergebnisse der im 2. Teil geschilderten Versuche verwendet. Die Quotientenwerte der bei verschiedenen Temperaturen gelagerten Kartoffeln über die Dauer der Lagerung sind in der Abb. 11 A und B graphisch dargestellt worden.

Aus der Abb. 11 B ist zu entnehmen, daß der DAS-Gehalt nach der Ernte allgemein ansteigt, d. h. der Quotient vermindert sich, wie es schon aus der Tabelle 9 zu ersehen war. Der Quotient bleibt aber nun nicht konstant, sondern sinkt bei 4° und 7,5° C im Winter weiterhin ab,

steigt jedoch mit Beginn des Frühjahrs wieder an. Da der VC-Gehalt zu dieser Zeit nicht anwächst (s. Abb. 10) und bloß der Quotient sich verändert, muß daraus geschlossen werden, daß die Verschiebung des Verhältnisses nur relativ ist. Das heißt, daß entweder weniger AS zu DAS oxydiert oder wahrscheinlicher DAS zu AS reduziert wird. In jedem Falle erhöht sich der AS-Gehalt relativ und damit verändert sich das Redoxpotential, denn das VC ist ja ein Redox-System (vgl. GERRETSEN 1951).

Bei den bei 20° C gelagerten Kartoffeln ist ein solcher Anstieg des Quotienten kaum zu beobachten. Wenn wir aber die Abb. 11B be-

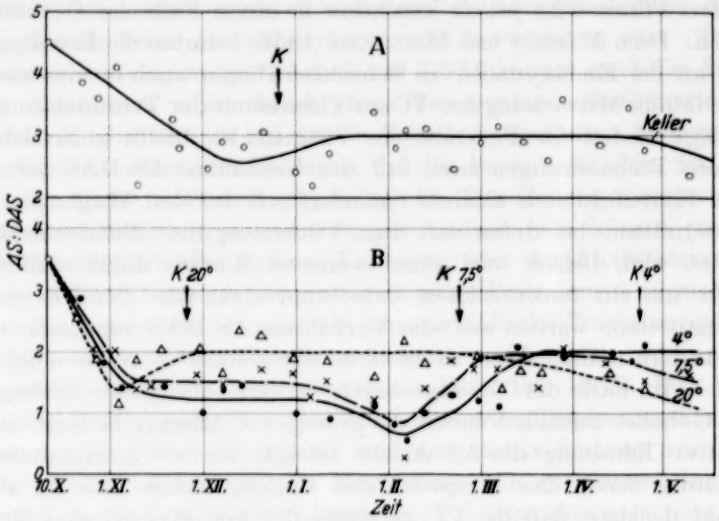

Abb. 11 A u. B. Das Verhältnis AS : DAS in gelagerten Kartoffelknollen der Sorte Ackersegen bei verschiedenen Lagertemperaturen während der Lagerungsdauer von Oktober bis Mai. *K* Beginn der Keimung der Augen

trachten, so fällt es auf, daß der Quotient in der 20°-Kurve längere Zeit einen Wert von etwa 3 besitzt. In dieser Zeit erfolgt jedoch auch das Austreiben der Augen. Bei den im Keller in schwankender Temperatur gehaltenen Knollen sind die Quotientenwerte, wie im 2. Teil schon erwähnt wurde, sehr uneinheitlich. Doch bewegt sich auch hier der Quotient lange Zeit um den Wert 3, vor allem zur Zeit des Keimens der Knollen (Abb. 11A). Bei 7,5° und 4° C beginnt das Austreiben der Augen erst zu dem Zeitpunkt, in dem der Quotient gegen 3 geht. Wir werden darauf in der Besprechung zurückkommen.

III. Besprechung der Ergebnisse

Die Frage nach der Funktion des VC in der Pflanze war bisher ungeklärt. Die weite Verbreitung des Vitamins in allen Pflanzen und Pflanzenteilen hat wiederholt zu Hypothesen angeregt, denen zufolge die AS an biochemischen Vorgängen wie Atmung, Photosynthese, Nitratreduktion usw. beteiligt sein soll. Wie MAPSON (1953) in einem Referat

gezeigt hat, sind alle daraufhin unternommenen Versuche jedoch nur in vitro durchgeführt worden, wobei das VC als Redox-System AS—DAS die Aufgabe des Wasserstofftransportes übernehmen sollte. In vivo konnten aber derartige Vorgänge nicht nachgewiesen werden. Als Stoffwechselendprodukt kann das VC nicht angesehen werden, weil es abgebaut wird. Das VC aber nur als ein funktionsloses Zwischenprodukt aufzufassen, ist insofern wenig wahrscheinlich, als auch die meisten anderen Vitamine bisher als Funktionsträger in den Pflanzen selbst erwiesen werden konnten. Die Wahrscheinlichkeit einer Funktion des VC in den Pflanzen ist jedoch zumindest in einem Falle zur Gewißheit geworden. Denn MAPSON und MOUSTAFA (1956) konnten die Beteiligung des VC an der Endoxydation in Erbsenkeimlingen auch in vivo nachweisen. Ob die Mitwirkung des VC am Chemismus der Terminalatmung der einzige Modus der Funktion des Vitamins ist, bleibt abzuwarten.

Unsere Beobachtungen nun, daß das Verhältnis AS:DAS bei gelagerten Kartoffeln sich ähnlich verändert wie bei den Vorgängen an Gewebeschnitten, bei denen mit dem VC-Anstieg der Wundverschluß eingeleitet wird, liefern wohl einen weiteren Hinweis dafür, daß das VC nicht nur ein funktionsloses Zwischenprodukt ist. Denn es wäre nicht einzusehen, warum sich das Verhältnis AS:DAS zugunsten der AS verändern sollte, wenn nicht eine physiologische Notwendigkeit bestünde. Im Falle der Gewebeschnitte ist das anfängliche Ansteigen des AS-Gehaltes zunächst durch die gesteigerte Atmung bedingt, und die relative Erhöhung des AS-Anteils erfolgt, wie wir gezeigt haben, zwangsläufig durch das Einspielen der Gleichgewichte. Es ist aber sehr wohl denkbar, daß das VC im Sinne der von MAPSON und MOUSTAFA beschriebenen Reaktion gleichzeitig im Stoffwechsel mitwirkt. Denn das Einsetzen von Zellteilungen zum Zwecke des Wundverschlusses, die Bereitstellung der erforderlichen Stoffe zur Verkorkung dieser gebildeten Zellen usw. sind natürlich mit einem lebhaften Umbau von Stoffen verbunden und machen die Freisetzung von chemischer Energie notwendig. Dabei werden Oxydationen in größerem Ausmaße stattfinden.

Die Reaktion nach MAPSON und MOUSTAFA soll nun nach folgendem Schema ablaufen:

$$\text{Substrat} \cdot H_2 + TPN^+ \xrightarrow[\text{spezifisch für TPN}]{\text{Dehydrogenasen}} TPNH + H^+ + \text{Substrat}$$

$$TPNH + H^+ + GSSG \xrightarrow{\text{Glutathionreduktase}} TPN^+ + 2\,GSH$$

$$2\,GSH + DAS \xrightarrow{\text{DAS-Reduktase}} AS + GSSG$$

$$AS + {}^1/_2\,O_2 \xrightarrow{\text{AS-oxydierende Fermente}} DAS + H_2O$$

TPN = Triphosphopyridinnucleotid, GSSG = oxydierte Form des Glutathion, GSH = reduzierte Form.

Für diese Reaktion ist auch Glutathion erforderlich. Letzteres reichert sich aber nach MAPSON (1953) ebenfalls bei der Wundheilung verletzter Kartoffeln an, und PETT (1936) hat die Parallelität eines AS-Anstieges mit einer Erhöhung der Glutathionkonzentration bei Kartoffelgewebeschnitten im Zusammenhang mit dem Austreiben der Augen bereits nachgewiesen. Es ist daher durchaus möglich, daß diese Reaktion als Endoxydation im Kartoffelgewebe in gleicher Weise abläuft wie in Erbsenkeimlingen.

Gänzlich unverständlich müßte nun die Veränderung des Quotienten bei gelagerten Kartoffeln, bei denen keine Erhöhung des VC-Gehaltes eintritt, erscheinen, wenn sie nicht aus der neu auflebenden Aktivität der Gewebe beim Austreiben der Augen zu verstehen wäre. Dank der konstanten Temperaturen bei 4° und 7,5° C konnte auch die Änderung des Quotienten nicht durch einen Temperaturwechsel bedingt sein, welche Möglichkeit wir bei den in Tabelle 9 erwähnten Beobachtungen einräumen mußten. Die Tatsache, daß die Augen austreiben, ist aber ein Zeichen dafür, daß auch physiologische Wandlungen eingetreten sind. Da diese Wandlungen nicht exogen bedingt sein können wegen der Gleichmäßigkeit aller äußerer Faktoren, wird der Aktivitätswechsel in inneren Veranlagungen etwa als endogener Periodismus zu suchen sein. Das Wachstum der Knospen als jahresperiodische Erscheinung verlangt jedoch auch die Bereitstellung chemischer Energien, die nur durch Oxydation zustande kommen können (BÜNNING 1953). Das bedeutet in jedem Falle gegenüber dem vorausgehenden Ruhezustand eine Aktivierung des Fermentapparates und der Redox-Systeme zum Zwecke der Wasserstoffübertragung. Nach dem oben erwähnten Schema der Endoxydation unter Mitwirkung des VC wäre demnach eine erhöhte Konzentration an AS durchaus verständlich. Die Intensivierung der Oxydationsvorgänge müßte sich freilich auch an Hand der CO_2-Abgabe bzw. des Sauerstoffverbrauches ermitteln lassen. Untersuchungen darüber, d. h. an Kartoffeln, die eben zu keimen beginnen, sind mir nicht bekannt geworden.

Wenn nun die Vergrößerung des Quotientenwertes, also die relative Steigerung des AS-Anteiles, unter den oben geschilderten Aspekten durchaus verständlich ist, so bleibt es doch zunächst rätselhaft, warum ein solcher Anstieg nicht auch bei den bei 20° C gelagerten Kartoffeln festzustellen ist. Hier ist nun anzuführen, daß ja dank der höheren Temperatur die Aktivität der Gewebe allgemein höher ist. Das bedeutet aber, daß bei dieser Temperatur der vorhandene AS-Anteil vielleicht groß genug ist, um die Oxydation in ausreichendem Ausmaße ablaufen zu lassen. Es würde also nur ein Quotient bestimmter Höhe erforderlich sein. Dies könnte in der Tat zutreffen. Betrachten wir nämlich die Abb. 11, so fällt es auf, daß die Keimung der Augen jeweils eintritt, wenn der Quotient gegen den Wert 3 geht. Daraus wäre sonach zu

verstehen, daß das Treiben der bei 4° C gelagerten Kartoffeln erst im Mai einsetzt, während die bei 20° C gehaltenen Knollen schon früher austreiben können, weil der Quotient gar nicht unter den Wert 3 absinkt. Das gleiche gilt dann auch für die im Keller gelagerten Kartoffeln, bei denen der Quotient im allgemeinen bei 3 liegt und deren Keime Ende Dezember das erste Wachstum zu zeigen beginnen. Unter diesem Gesichtspunkt wäre dann allerdings ein Ansteigen des AS-Anteils nicht notwendig.

Man könnte sich aber auch vorstellen, daß bei höheren Temperaturen die Stoffwechselaktivierung früher einsetzt, bevor der Quotient überhaupt erst abgesunken ist. Die relative Erhöhung des AS-Anteils wäre danach mit der steigenden Aktivierung verbunden, die um so früher beginnt, je höher die Temperatur ist, so daß auch das Keimen der Augen um so eher anhebt. Das mit der Lagerung zusammenhängende Absinken des Quotienten würde von der frühen Aktivierung gleichsam aufgefangen. Dafür spricht die 20°-Kurve (Abb. 11 B), die anfangs etwas unter den Wert 3 sinkt, dann aber mit dem Keimbeginn wieder ansteigt. Und auch die Kurve des Quotienten der im Keller gelagerten Kartoffeln fällt erst unter den Wert 3 ab (Abb. 11 A) und steigt mit dem Keimbeginn an, sofern man diese Kurve angesichts der starken Streuung der Einzelwerte überhaupt gelten lassen will.

Nach dieser zweiten Vorstellung würde dann das nur geringfügige Ansteigen des AS-Gehaltes der bei 20° C und der im Keller gehaltenen Knollen auf den Einfluß der Temperatur zurückzuführen sein und wäre ein Ausdruck des endogen bedingten und von exogenen Faktoren (z. B. von der Temperatur) modifizierbaren Aktivitätswechsels ruhender Organe, der sich bei der Kartoffel morphogenetisch durch die Keimung der Augen offenbart.

Natürlich ist nicht anzunehmen, daß das Verhältnis AS:DAS die entscheidende Ursache der Keimung der Augen ist. Aber als Begleiterscheinung sollte es für das Verständnis der physiologischen Abläufe in der Knolle beachtet werden. Vielleicht ist es kein Zufall, daß auch bei den Vorgängen des Wundverschlusses an Kartoffelgewebeschnitten jeweils in der Phase größter Aktivität der Quotient den Wert 3 erreicht oder überschreitet (s. Tabelle 7 und 8, Reihe 4), bzw. daß die Veränderung des Verhältnisses AS:DAS mit der Erhöhung der Atmungsintensität einhergeht. Daß der Wert 3 nur eine relative Zahl ist und keine absolute Quantität darstellt, sei unter Verweis auf die im 1. Teil gemachten Ausführungen allerdings noch einmal betont.

Bei der Keimung von Samen erhöht sich bekanntlich mit fortschreitender Entwicklung der VC-Gehalt. Eigene Versuche an *Sinapis alba* (FRANKE 1954) ergaben, daß der VC-Gehalt z. B. mit zunehmender Intensität der Atmung anstieg, wobei die Kurven für Atmung und

VC-Gehalt bis zur 96. Stunde weitgehend parallel verliefen. Berechnen wir hierzu die Werte des Quotienten AS : DAS, so überrascht auch dabei die Übereinstimmung des Verlaufes der Kurven (Abb. 12). Denn der Quotient, der, wie im 2. Teil erwähnt, bei ruhenden Samen weit nach der Seite der DAS verschoben ist (hier AS : DAS = 0,1), verändert sich mit ansteigender Atmung zugunsten des AS-Anteils der wachsenden Keimlinge. Nach Überschreiten des Atmungsmaximums, bei dem der Quotient den Wert 2,45 erreicht, vermindert sich der Quotient mit sinkender Atmungsintensität, d. h. der DAS-Anteil nimmt wieder relativ zu, obwohl der VC-Gehalt noch anwächst bzw. gleich groß bleibt. Über ein ganz entsprechendes relatives Ansteigen des AS-Gehaltes und parallel dazu der reduzierten Form des Glutathion (GSH) bei keimenden Erbsen berichten Spragg und Yemm (1954).

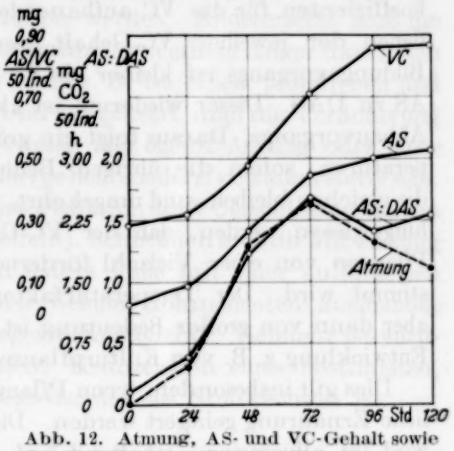

Abb. 12. Atmung, AS- und VC-Gehalt sowie das Verhältnis AS : DAS bei Keimlingen von *Sinapis alba*. AS- und VC-Gehalt jeweils bezogen auf 50 Individuen. Keimung der Samen auf feuchtem Filtrierpapier über 120 Std im Dunklen bei 25° C

Sollte also VC wirklich als Wasserstoffüberträger bei der Endoxydation der Atmung fungieren, so ist ohne Zweifel zu erwarten, daß durch die Wirkung eines reduzierenden Fermentes z. B. einer DAS-Reduktase DAS zu AS im Sinne der von Mapson und Moustafa geschilderten Reaktion reduziert wird. Dabei muß auch der Gehalt an AS zumindest zeitweilig und relativ anwachsen. So sind entsprechend die Angaben von Kurc (1950) und Lecat (1952) zu verstehen, wonach Gewebe mit intensivem Stoffwechsel einen größeren Quotienten besitzen als solche ruhender Organe, deren Stoffwechsel weitgehend eingeschränkt ist. Wenn daher die Intensität der Oxydationen wieder abnimmt, wird auch das Verhältnis AS : DAS sich wieder nach der Seite der DAS verschieben, weil dann die Abbauvorgänge z. B. bei gelagerten Kartoffeln ohne die Gegenwirkung der Reduktionsvorgänge ablaufen können.

Somit ergibt sich nach unserer Auffassung, daß die Beziehung zwischen Atmungsintensität und VC-Gehalt nicht nur in einer Anreicherung des VC durch seine Bildung als Zwischenprodukt des Stoffwechsels, sondern auch in einer Mitwirkung der beiden Komponenten AS und DAS an spezifischen Stoffwechselabläufen bestehen kann. Diese Beziehung betrifft z. B. Oxydationsvorgänge, bei denen das VC als Redox-System etwa bei der Terminalatmung als Wasserstoffüberträger dienen kann.

Sie läßt sich an der Änderung des Quotienten AS:DAS erkennen und verdeutlicht, daß das VC auch in der Pflanze in vivo eine Funktion auszuüben vermag.

Schlußbemerkungen

In der vorliegenden Arbeit wurden drei im Zusammenhang stehende Fragen behandelt. Die Abhängigkeit des VC-Gehaltes von der Temperatur erklärt sich aus der unterschiedlichen Größe der Temperaturkoeffizienten für die VC aufbauenden und abbauenden Vorgänge, aus denen der jeweilige VC-Gehalt resultiert. Der Koeffizient des AS-Bildungsvorgangs ist kleiner als der des Vorgangs der Oxydation von AS zu DAS. Dieser wiederum ist kleiner als der Koeffizient des DAS-Abbauvorgangs. Daraus folgt ein größerer VC-Gehalt bei tieferen Temperaturen, sofern die übrigen Bedingungen beim Temperaturwechsel die gleichen bleiben, und umgekehrt. Doch muß auch hier wieder darauf hingewiesen werden, daß der VC-Gehalt in freier Natur wachsender Pflanzen von einer Vielzahl fördernder und hemmender Einflüsse bestimmt wird. Der Temperaturfaktor ist nur einer der Faktoren, der aber dann von großer Bedeutung ist, wenn der Mensch regulierend die Entwicklung z. B. von Kulturpflanzen zu bestimmen sucht.

Dies gilt insbesondere, wenn Pflanzen oder Teile davon für die menschliche Ernährung gelagert werden. Die Anwendung tiefer Temperaturen wird im allgemeinen erhaltend auf den VC-Gehalt wirken, vor allem wenn die Pflanzenteile keine Überdauerungsorgane darstellen und ihr Stoffwechsel früher oder später zum Erliegen kommt. Da in diesem Falle der für die menschliche Ernährung wichtige VC-Gehalt fast nur noch abbauenden Vorgängen unterworfen ist, wird die Kaltlagerung in dieser Hinsicht von großem Gewinn sein. Bei Überdauerungsorganen, deren Stoffwechsel, und damit auch der AS-Bildungsvorgang, über die gesamte Lagerzeit hinweg aufrechterhalten wird, kann die Anwendung tiefer Temperaturen daher u. U. sogar eine Erhöhung des VC-Gehaltes verursachen. Die Grenzen der Kaltlagerung in speziellen Fällen z. B. bei Kartoffelknollen sind freilich durch die besonderen Eigenarten des Lagergutes festgelegt und sind von Fall zu Fall zu ermitteln.

Der jeweilige VC-Gehalt setzt sich aus den Anteilen von AS und DAS zusammen. Wie sich gezeigt hat, ist das Verhältnis dieser Anteile zueinander durchaus nicht konstant, sondern wechselt je nach dem Ausmaß von Bildung und Abbau des VC und nach der Bedeutung des VC im Organismus. Das VC ist nämlich entweder bloßes Stoffwechselzwischenprodukt oder kann zumindest zeitweilig auch eine Funktion im Stoffwechsel der Pflanzen übernehmen. Das Verhältnis von AS:DAS vermag daher Aussagen zu machen sowohl über die Wirkung äußerer Faktoren auf die Größe des VC-Gehaltes als auch über die Mitwirkung

des VC im Chemismus der Organe. Wir halten es aus diesen Gründen für notwendig, bei Untersuchungen an Pflanzen in bezug auf den VC-Gehalt diesen Quotienten der VC-Komponenten zu berücksichtigen. Denn wenn der VC-Gehalt mit ansteigender Atmungsintensität sich erhöht, so kommt damit zunächst zum Ausdruck, daß der VC-Bildungsvorgang mit dissimilatorischen Abläufen verknüpft ist. Wenn sich aber dabei zugleich das Verhältnis AS:DAS nach der Seite der AS verschiebt (z. B. bei keimenden Samen und Gewebeschnitten), so kann daraus auf eine Funktion des VC geschlossen werden. Andererseits muß die Erhöhung des VC-Gehaltes nicht unbedingt von einem länger dauernden Wechsel des Quotienten begleitet sein (z. B. bei einem plötzlichen und einmaligen Temperaturwechsel). Und umgekehrt muß die Veränderung des Quotienten nicht notwendigerweise mit einem Anstieg oder einer Verminderung des VC-Gehaltes einhergehen, sondern sie kann relativ sein. Daraus kann dann allerdings nur eine Funktion des VC erschlossen werden (z. B. beim Keimen gelagerter Kartoffeln). Schließlich muß die Mitwirkung des VC am Stoffwechsel nicht in jedem Falle mit einer auffallenden Verschiebung des Verhältnisses der beiden Komponenten zueinander gekoppelt sein (z. B. bei 20° C gelagerte Kartoffeln). Vielmehr ist anzunehmen, daß der jeweilige Quotient Kennzeichen eines bestimmten, vielleicht artabhängigen Aktivitätszustandes des Stoffwechsels ist.

Zusammenfassung

1. An Gewebeschnitten von Kartoffel- und Kohlrabiknollen wird der Nachweis geführt, daß tiefere Temperaturen (7,5° und 15° C) einen größeren Gehalt an Vitamin C (VC) zur Folge haben als höhere Temperaturen (25° C). Das steht in Übereinstimmung mit zahlreichen Literaturangaben über ähnliche Befunde an anderen Pflanzen und Organen.

2. Die Analyse der VC-Bildungs- und VC-Abbauvorgänge an diesen Gewebeschnitten insbesondere unter Berücksichtigung der Werte für Ascorbinsäure (AS) und Dehydroascorbinsäure (DAS) und des Quotienten AS:DAS ergibt, daß die Ursache der VC-Gehaltserhöhung bei tieferen Temperaturen in der unterschiedlichen Größe der Temperaturkoeffizienten für die Teilvorgänge zu suchen ist.

3. Aus den Ergebnissen ist zu schließen, daß der Temperaturkoeffizient für den DAS-Abbau größer ist als der für die Oxydation der AS zu DAS, während der Koeffizient für die AS-Bildung kleiner als die beiden erstgenannten ist. Das bedeutet, daß bei tieferen Temperaturen die AS-Bildung relativ beschleunigt, die Abbauvorgänge relativ verlangsamt werden. Daraus resultiert insgesamt ein höherer VC-Gehalt.

4. Die durch tiefere Temperaturen ausgelöste größere Stärkehydrolyse bzw. Erhöhung der Zuckerkonzentration wirkt zwar in gleicher Richtung fördernd, kann aber nur sekundäre Bedeutung haben.

5. Bei gelagerten Kartoffelknollen gelten im Prinzip die gleichen Regeln wie bei den Gewebeschnitten, d. h. bei tieferen Temperaturen (4° und 7,5° C) besitzen die Knollen im allgemeinen einen größeren VC-Gehalt als bei höheren Temperaturen (20° C). Allerdings sinkt der VC-Gehalt während der Lagerung — wie bekannt — anfangs schneller, später langsamer ab.

6. Im Temperaturbereich unterhalb +5° C liegen bei Kartoffeln besondere Stoffwechselverhältnisse vor, bei denen die geschilderten Regeln offenbar nicht zutreffen.

7. Der Quotient AS:DAS bleibt während der Lagerung nicht konstant, sondern verändert sich insbesondere zu Beginn des Austreibens der Augen zugunsten der AS. Da diese Veränderung auch bei konstanter Temperatur und sonst gleichen Bedingungen eintritt, muß die Ursache dafür in endogenen Veranlagungen gesucht werden. Die Veränderung des Quotienten wird als Ausdruck einer Stoffwechselaktivierung angesehen.

8. Das Austreiben der Augen an gelagerten Kartoffeln ist das Ergebnis schon vorher einsetzender Stoffwechselvorgänge, die die für die Wachstumsreaktionen notwendigen Baustoffe und Energien bereitstellen müssen. Entsprechend den Beobachtungen von MAPSON und MOUSTAFA (1956) an keimenden Erbsen wird auch für die Kartoffel vermutet, daß das VC als Redox-System an diesen Reaktionen beteiligt ist, womit das relative Ansteigen des AS-Gehaltes allein verständlich würde. Das analoge Anwachsen des an diesen Reaktionen beteiligten Glutathions zu Beginn des Austreibens der Augen (PETT 1936, MAPSON 1953) spricht ebenfalls für eine solche Funktion des VC.

9. Auch bei keimenden Samen von *Sinapis alba* verändert sich der Quotient AS:DAS parallel zur Atmungsintensität.

10. Aus den zuletzt genannten Ergebnissen wird geschlossen, daß das VC nicht nur ein Stoffwechselzwischenprodukt ist, sondern in den Pflanzen zumindest zeitweilig auch eine spezielle Redox-Funktion erfüllt. Der jeweilige Quotient ist also Kennzeichen eines bestimmten Aktivitätszustandes der betreffenden Organe oder Gewebe.

Literatur

ÅBERG, B.: Changes in the ascorbic acid content of darkened leaves as influenced by temperature, sucrose application and severing from the plant. Physiol. Plantarum (Copenh.) **2**, 164 (1949). — BARKER, J.: Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **112**, 316 (1933). Zit. nach K. PAECH 1939b. — The ascorbic acid content of potato tubers. I. The relation between ascorbic acid and the sugar content, as influenced by the maturity of lifting and by storage. New Phytologist **49**, 11 (1950). — BARKER, J., and L. W. MAPSON: The ascorbic acid content of potato tubers. II. The influence of the temperature of storage. New Phytologist **49**, 283 (1950). — The ascorbic acid content of potato tubers. III. The influence of storage in nitrogen,

air and pure oxygen. New Phytologist **51**, 90 (1952). — Beevers, H., and M. Gibbs: The direct oxidation pathway in plant respiration. Plant Physiol. **29**, 322 (1954). — Bünning, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie, 3. Aufl., S. 87 ff. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. — Burns, J. J., E. H. Mosbach, S. Schulenburg and J. Reichenbach: Studies on the incorporation of C^{14} administered as L-sorbose into L-ascorbic acid and D-glucose in rats. J. of Biol. Chem. **214**, 507 (1955). — Creac'h, P. V., et J. Baraud: L'acide ascorbique total dans les algues marines. C. r. Soc. Biol. Paris **148**, 105 (1954). — Damanski, A. F., R. Topalovic-Abramov u. L. Kasas: Vitamin C in tomato during vegetation period. Sprska Akad. Nauka **19**, 15 (1952). Zit. nach Ber. wiss. Biol. **85**, 171. — Fellenberg, Th., u. H. Wuhrmann: Über die Abnahme des Vitamins C bei der Lagerung der Kartoffeln, 4. Mitt. Mitt. Lebensmittelunters. **33**, 224 (1942). Franke, W.: Über die Biosynthese des Vitamins C. I. Mitt. Die Beziehungen zwischen Vitamin C und der Atmung. Planta (Berl.) **44**, 437 (1954). — Moderne Methoden der Pflanzenanalyse, Bd. II, S. 95: Ascorbinsäure. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955a. — Über die Biosynthese des Vitamins C. 2. Mitt. Zur Biochemie und Physiologie der Vitamin-C-Synthese. Planta (Berl.) **45**, 166 (1955b). — Über das Vorkommen der Dehydroascorbinsäure in Pflanzen. Biol. Zbl. **76**, 148 (1957). — Gerretsen, F. C.: Studies in photosynthesis. IV. Redox potentials and corresponding p_H-changes in illuminated crude chloroplast suspensions. Plant & Soil **3**, 1 (1951). — Gurmaza, A. M.: Der Einfluß der Bodentemperatur auf den Vitamin-C-Gehalt in Kartoffeln. Dokl. Akad. Nauk. SSSR., N.S. **97**, 923 (1954). — Haberlandt, G.: Zur Physiologie der Zellteilung. Sitzgber. preuß. Akad. Wiss. **16**, 318 (1913). — Hilkenbäumer, F., u. G. Buchloh: Zur Frage der Entstehung und Wirkung des Äthylens beim Reifen des Apfels. Festschrift zum 25jährigen Bestehen des gärtnerischen Hochschulstudiums in Deutschland, S. 41. Berlin 1955. — James, W. O.: Plant Respiration, S. 37. Oxford 1953. — Knapp, R.: Effekte wechselnder hoher und tiefer Temperaturen bei der Keimung von Sonchus arvensis. Naturwiss. **43**, 41 (1956). — Koch, J., u. G. Bretthauer: Über den Vitamin C-Gehalt reifender Früchte. Landw. Forsch. **9**, 51 (1956). — Kurc, F. A.: Oxydo-Reduktionsprozesse und Verhältnis der zwei Formen der Ascorbinsäure in der Pflanze. Dokl. Akad. Nauk. SSSR., N.S. **72**, 81 (1950). — Die Rolle der Ascorbinsäure als H_2-Überträger bei Pflanzen. Biochimija **18**, 284 (1954). — Lecat, P.: Acides ascorbiques oxydé et réduit. Ann. des Sci. natur. Bot., Ser. XI **10**, 71—90 (1949). — Repartition et variations du système ascorbique chez les végétaux. Plant & Soil (The Hague) **3**, 267 (1951). — Lona, F., e E. Porzio Giovanola: Über die Physiologie der Ascorbinsäure. VIII. Gehalt an Ascorbinsäure je nach Temperaturperiodik. Nuovo Giorn. bot. ital. **58**, 462 (1952). Zit. nach Ber. wiss. Biol. **83**, 297 (1953). — Lunde, G.: Vitamine in frischen und konservierten Lebensmitteln. Berlin: Springer 1940. — Mapson, L. W.: Function of ascorbic acid in plants. Vitamins & Hormons **11**, 1 (1953). — Mapson, L. W., E. M. Cruickshank and Y. T. Chen: Factors affecting synthesis of ascorbic acid in cress-seedlings. II. Ascorbic acid synthesis in relation to sugar formation. Biochemic. J. **45**, 171 (1949). — Mapson, L. W., and F. A. Isherwood: Biological synthesis of ascorbic acid: The conversion of derivatives of D-galacturonic acid into L-ascorbic acid by plant extracts. Biochemic. J. **59** (Proc.) IX—X (1955). — Mapson, L. W., and E. M. Moustafa: Ascorbic acid and glutathione as respiratory carriers in the respiration of pea-seedlings. Biochemic. J. **62**, 248 (1956). — Marx, Th.: Über den Oxydationsschutz der L-Ascorbinsäure in frischem Pflanzenmaterial. Z. Lebensmittelunters. u. Forsch. **99**, 181 (1954). — Medawara, M. R.: Notizen über Vitamin C in der Pflanze. Phyton (Horn) **2**, 193 (1950). — Müller-Thurgau, H.: Über Zuckeranhäufung in Pflanzenteilen infolge niedriger Temperatur.

Landw. Jb. **11**, 751 (1882). — Neubauer, M.: Das Vitamin C in der Pflanze. Protoplasma **33**, 345 (1939). — Olliver, M.: The ascorbic acid contents of fruits and vegetables with special reference to the effect of cooking and canning. J. Soc. Chem. Ind. Trans. **55**, 153 (1936). — Paech, K.: Pflanzenphysiologische Grundlagen der Kaltlagerung von Obst und Gemüse. Forschungsdienst **6**, 231 (1939a). — Die Veränderung des Vitamin-C-Gehaltes bei der Kaltlagerung und beim Gefrieren von Obst und Gemüse. Forschungsdienst **7**, 391 (1939b). — Biochemie und Physiologie der sekundären Pflanzenstoffe, S. 39. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1950. — Stoffwechsel organischer Verbindungen, II. Aus Fortschr. Bot. **17**, 585. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — Pett, L. B.: Changes in the ascorbic acid and glutathione content of stored and sprouting potatoes. Biochemic. J. **30**, 1228 (1936). — Rosenstock, G.: Kohlendioxyd-Entbindung nichtassimilierender Gewebe im Licht. Kritische Studien zum Problem der Lichtatmung. Planta (Berl.) **40**, 70 (1951). — Rudorf, W.: Entwicklungsphysiologische Grundlagen der Pflanzenzüchtung. In Handbuch der Pflanzenzüchtung, Bd. I, S. 210. Berlin 1941. — Sayre, C. B., W. B. Robinson and T. Wishnetsky: Effect of temperature on the color, lycopene and carotene of detached and of vine-ripened tomatoes. Proc. Amer. Soc. Horticult. Sci. **61**, 381 (1953). — Scheunert, A., J. Reschke and E. Kohlemann: Über den Vitamin-C-Gehalt der Kartoffeln. V. Mitt. Der Durchschnittsgehalt der deutschen Kartoffeln an Vitamin C vom Herbst bis zum Juni. Biochem. Z. **305**, 4 (1940). — Schulte, K. E., u. A. Schillinger: Untersuchungen über den oxydativen Abbau der L-Ascorbinsäure. III. Mitt. Beitrag zur Kenntnis der fermentativen Oxydation der L-Ascorbinsäure. Z. Lebensmittelunters. **94**, 309 (1952). — Seybold, A., u. H. Mehner: Über den Gehalt an Vitamin C in Pflanzen. Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss., Abh. 10. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1948. — Smith, A. M., and J. Gillies: The distribution and concentration of ascorbic acid in the potato. Biochemic. J. **34**, 1312 (1940). — Smith, F. G.: Ascorbic acid formation in potato-tuber-slices. Plant Physiol. **27**, 736 (1952). — Spragg, S. P., and E. W. Yemm: Glutathione and ascorbic acid in the metabolism of germinating peas. Biochemic. J. **58**, XI—XII (1954). — Sreenivasan, A., and S. D. Wandrekar: Biosynthesis of vitamin C during germination. I. Effect of various environmental and cultural factors. Proc. Indian Acad. Sci., Sect. B **32**, 143 (1950). — Wachholder, K.: Über den Vitamin-C-Gehalt roher und verschieden zubereiteter Kartoffeln und über dessen ernährungsphysiologische Bedeutung. Biochem. Z. **295**, 236 (1938). — Über das Oxydationsvermögen pflanzlicher Extrakte. Biochem. Z. **312**, 394 (1942). — Wetzel, K.: Die physiologischen Grundlagen der pflanzlichen Stoffproduktion. In Handbuch der Pflanzenzüchtung, Bd. I, S. 297. Berlin 1941. — Wright, R. C.: Some physiological studies of potatoes in storage. J. Agricult. Res. **45**, 543 (1932).

Priv.-Doz. Dr. Wolfgang Franke,
Bonn, Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität,
Meckenheimer Allee 176

Planta, Bd. 49, S. 389—405 (1957)

Aus dem U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Plant Industry Station, Beltsville, Md., U.S.A.

DER EINFLUSS MONOCHROMATISCHER STRAHLUNG AUF DAS LÄNGENWACHSTUM DES HYPOCOTYLS UND AUF DIE ANTHOCYANBILDUNG BEI KEIMLINGEN VON SINAPIS ALBA L. (= BRASSICA ALBA BOISS.)

Von

HANS MOHR

Mit 6 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. März 1957)

1. Einleitung

Das Längenwachstum der pflanzlichen Sproßachse wird durch Belichtung stark beeinflußt. Obwohl dieser Einfluß lange bekannt ist und obwohl sehr zahlreiche Untersuchungen zu diesem Problem vorliegen (vgl. die Zusammenfassungen von BURKHOLDER 1936, ÅBERG 1943, CROCKER 1948 und WASSINK und STOLWIJK 1956), ist die Einsicht in die beteiligten photochemischen Primärreaktionen, in die Photoreaktionen und in die auf die Photoreaktionen zurückgehenden Änderungen im Stoffwechsel der Zellen noch ziemlich beschränkt. Jedoch sind in den vergangenen Jahren wesentliche Fortschritte gemacht worden.

So ist der früher fast allgemein vertretene Standpunkt, daß im wesentlichen nur das kurzwellige Licht etiolementverhindernd wirke, aufgegeben worden. Es konnte nämlich in zahlreichen Untersuchungen an Dunkelkeimlingen bei Einstrahlung relativ kleiner Energiemengen gefunden werden, daß besonders Rotlicht etiolementverhindernde Wirksamkeit zeigt (LANGE 1929, WENT 1941, WEINTRAUB und MCALISTER 1942, WEINTRAUB und PRICE 1947, PARKER und Mitarbeiter 1949, GOODWIN und OWENS 1951, BORTHWICK und Mitarbeiter 1951, DOWNS 1955). DOWNS konnte nachweisen, daß dem lichtabhängigen Flächenwachstum der Blätter und der Etiolementverhinderung des Hypokotyls bei Bohnen dasselbe reversible Pigmentsystem zugrunde liegt, das auch an vielen anderen strahlungs-abhängigen Reaktionen beteiligt ist (vgl. die Diskussionen bei BORTHWICK und Mitarbeitern 1952, 1954, DOWNS 1955, MOHR 1956). Von BORTHWICK und Mitarbeitern ist die Vorstellung entwickelt worden, daß ein besonders Rotlicht absorbierendes Pigment sich unter dem Einfluß dieser Strahlung in ein Pigment umwandelt, das langwelliges Rotlicht und nahes Infrarot bevorzugt absorbiert. Dieses Pigment wandelt sich unter dem Einfluß der absorbierten Strahlung wieder in das rotlichtabsorbierende Pigment um. Der Zustand des reversiblen Pigmentsystems ist entscheidend für die Reaktion der Zelle bzw. des Organs.

Andererseits haben die Untersuchungen von WASSINK, STOLWIJK und Mitarbeitern gezeigt, daß bei älteren, grünen Pflanzen offenbar Verhältnisse vorliegen, die von den Verhältnissen bei Dunkelkeimlingen recht verschieden sind

(Zusammenfassungen bei STOLWIJK 1954, FORTANIER 1954, WASSINK und STOLWIJK 1956). Bei Experimenten mit ausschließlich monochromatischer Strahlung von relativ hoher Intensität und langer täglicher Belichtungsdauer z.B. hatte nur die kurzwellige sichtbare Strahlung einen Hemmeffekt auf die Internodienverlängerung, während das längerwellige Licht das Internodienwachstum weit stärker förderte als das als Kontrolle dienende Weißlicht. Diese Befunde bestätigen zahlreiche ältere Beobachtungen.

Die Resultate anderer Experimente können jedoch nicht ohne Schwierigkeiten in diese beiden Klassen von Reaktionen eingefügt werden, z. B. die Befunde von BÜNNING (1941), der bei relativ hoher Energieeinstrahlung an jungen Keimlingen von *Sinapis alba* eine ähnlich starke etiolementverhindernde Wirkung von blauem und organgefarbigem Licht feststellte oder die Resultate von WITHROW (1941), der im Dauerlicht niederer Intensität an Keimlingen verschiedener Arten beobachtete, daß auch dem langwelligen Rotlicht eine starke etiolementverhindernde Wirkung zukommt. Es ist unwahrscheinlich, daß diese Befunde lediglich durch die Wirksamkeit des reversiblen Pigmentsystems erklärt werden können, und es scheint so zu sein, daß an der Etiolementverhinderung während des Keimlingsstadiums mehrere Photoreaktionen beteiligt sein können.

Wird ein Dunkelkeimling bestrahlt, so treten zahlreiche beobachtbare Veränderungen auf. Zunächst war beabsichtigt, die Untersuchungen streng auf die Beeinflussung des Hypocotylwachstums zu beschränken. Da sich aber bald enge Zusammenhänge zeigten, so wurde eine weitere, besonders auffällige Veränderung des Keimlings unter Strahlungseinfluß, nämlich die Bildung von Anthocyan, in die Untersuchungen mit aufgenommen.

Daß die Anthocyanbildung in manchen Geweben durch Strahlung beeinflußt wird, ist schon länger bekannt (vgl. ARTHUR 1932, 1936). Während ARTHUR den Standpunkt vertritt, daß besonders kurzwellige sichtbare Strahlung und Teile des Ultraviolett die Anthocyanbildung fördern, haben WITHROW und Mitarbeiter (1953) Anthocyanbildung unter dem Einfluß langwelligen Lichtes festgestellt. Umfassende Untersuchungen über den Strahlungseinfluß auf die Anthocyanbildung wurden von SIEGELMAN und HENDRICKS (1957) durchgeführt. Sie zeigen, daß dem langwelligen Bereich des sichtbaren Spektrums eine große Bedeutung bei der Anthocyanbildung zukommt.

In der hier vorliegenden Arbeit wird der Strahlungseinfluß auf die Anthocyanbildung mit dem Strahlungseinfluß auf das Hypocotylwachstum verglichen.

2. Methodik

a) Material. Verwendet wurden Samen von *Sinapis alba* (Ernte 1954, Samenhaus Bolgiano, Washington, D.C.). 65% der Samen sind noch keimfähig (Jan. 1957). Die aus diesem Samenmaterial hervorgehenden Keimlinge haben die Fähigkeit, bei Belichtung relativ sehr viel Anthocyan zu bilden. Überraschenderweise war *Sinapis alba*-Samenmaterial, das von zwei anderen Quellen bezogen wurde, hinsichtlich der Anthocyanbildung bei weitem nicht so ergiebig. Wodurch

diese Differenzen bedingt sind, ist nicht klar. Vielleicht sind genetische Unterschiede vorhanden, vielleicht spielt auch das Alter der Samen eine wichtige Rolle.

Um eine homogenere Keimlingspopulation zu schaffen, wurde das Samenmaterial nach folgenden zwei Gesichtspunkten aufgetrennt.

1. Nach der Samengröße. Mittels eines Siebes wurden größere und kleinere Samen, etwa im Verhältnis 1:2 getrennt. Verwendet wurden nur die größeren Samen.

2. Nach der Keimgeschwindigkeit. Wurden die Samen auf Standardkeimpapier unter genau standardisierten Bedingungen bei 26° C gekeimt, so zeigten 24 Stunden nach Aussaat etwa 30% der Samen die Spitze der Radicula. Diese angekeimten Samen wurden für die Experimente verwendet. Sie wurden im grünen Sicherheitslicht (Fluorescenzröhre, 30W, green, General Electric) sehr niedriger Intensität mittels einer gebogenen Pinzette auf andere Keimpapierblätter übertragen. Die Übertragung in diesem Keimungsstadium hatte, wie entsprechende Versuche ergaben, keinen störenden Einfluß auf das Längenwachstum des Hypocotyls und auf die Anthocyanbildung.

b) Keimpapier und Wasserversorgung. Die Keimlinge wuchsen auf vorgequollenem Filterpapier (Whatman, No. 3). Unter diesem weißen Papier befanden sich mehrere Lagen von dunklem Standardkeimpapier. Die Zahl der Lagen des stets 16 Stunden vorgequollenen Keimpapiers, sowie die Menge des noch zugefügten Wassers (Leitungswasser) waren den Erfordernissen der verschiedenen Experimente angepaßt und sorgfältigst standardisiert, denn sowohl die Art und der Zustand des Keimpapiers wie auch die Menge des vorhandenen Wassers haben einen starken Einfluß auf das Wachstum der Keimlinge. Es wurde stets soviel Wasser zu Beginn der Versuche zugefügt, daß bei Beendigung des Experiments noch freibewegliches Wasser zwischen den Keimpapierlagen vorhanden war. Dadurch waren eine befriedigende Wasserversorgung und eine hohe und konstante Luftfeuchtigkeit während des Versuchs gewährleistet. Für alle Versuche wurden farblose, mit Glasplatten verschlossene Kunststoffgefäße verwendet. Ihre Größe war den Erfordernissen der verschiedenen Versuche angepaßt.

c) Temperaturen. Weder für die Anthocyanbildung noch für das Hypocotylwachstum wurden optimale Temperaturbereiche festgestellt, sondern es wurde die Lufttemperatur in dem verwendeten Brutschrank (26° C) und in den Fluorescenzlichtkammern (27° C) der Temperatur in dem Bestrahlungsraum des Spektrographen (27° C) angepaßt, die nicht verändert werden konnte.

d) Der Spektrograph. Als Quelle der monochromatischen Strahlung diente ein Spektrograph, der bei Parker und Mitarbeitern (1946) und Downs (1955) näher beschrieben ist. Das horizontal aus dem Spektrographen austretende Licht wurde durch Spiegel vertikal nach unten reflektiert. Der Spektrograph wurde in diesen Experimenten als Einprismeninstrument mit reduzierter Bildweite verwendet um die Intensität der Strahlung zu erhöhen. Die Dispersion wurde dadurch herabgesetzt und die Menge des Streulichts vergrößert. In der benützten Position, die eine Kompromißlösung darstellt, war die effektive Spaltbreite in der Bildebene etwa 24 mμ bei $\lambda = 700$ mμ und 5 mμ bei $\lambda = 400$ mμ (Breite des Eingangsspaltes: 0,5 cm). Unter diesen Bedingungen ist die Intensität im Spektrum zwischen 540 und 740 mμ ziemlich konstant (etwa 3500 erg/cm^2 · sec $\pm$ 10%), im kurzwelligen Bereich des Spektrums fällt die Intensität aber stark ab. Deshalb konnte in diesem Spektralbereich nicht das kontinuierliche Spektrum verwendet werden, sondern es mußten — mit Hilfe mehrerer Spiegel, die Teile des Spektrums aufeinanderspiegelten — einzelne Stationen hergestellt werden, deren Intensität (in erg/cm^2 · sec) der im langwelligen Bereich herrschenden Intensität angepaßt war. Durch die Aufeinanderspiegelung des Spektrums wurde die Breite der bestrahlten Fläche entsprechend reduziert.

Die bestrahlte Fläche wurde in Stationen eingeteilt, die im langwelligen Bereich (550 bis 800 mμ) 5 cm hoch und 1 cm (Hypocotylwachstum) oder 2 cm (Anthocyanbildung) breit waren. Im kurzwelligen Bereich hatten, wegen der verschmälerten bestrahlten Flächen, die Stationen andere Abmessungen, aber ähnlichen Flächeninhalt (etwa 10 cm^2). Pro Station wurden für die Längenwachstumsexperimente 10 (im Blaubereich 20), für die Anthocyanbildung 24 Keimlinge verwendet. Die Wellenlänge der Strahlung, die auf die Mitte der Stationen fiel ist in den Aktionsspektren angegeben.

e) Andere Lichtquellen. Die im hiesigen Institut verwendeten Standard-Strahlungsquellen für Rotlicht (Rotlichtfeld) und für langwelliges Rotlicht und kurzwelliges Infrarot (= Infrarotfeld), die durch Kombination von Weißlicht-fluoreszenzröhren bzw. Glühlampen mit Cellophan- und Wasserfiltern hergestellt wurden, sind bei DOWNS (1955) näher beschrieben.

In den Fluorescenzlichtkammern benutzten wir 3 Typen von Röhren (General Electric): für Rotlicht: 40 W, red, Gipfel der Emission bei 640 mμ; für Blaulicht: 40 W, blue, Gipfel der Emission bei 440 mμ; für das Weißlichtfeld: 40 W, Standard cool white. Für die Experimente mit diesen Strahlungsquellen wurden pro Station 20 oder 30 Keimlinge (Längenwachstum) oder 28 Keimlinge (Anthocyanbildung) verwendet.

f) Die Messung des Anthocyans. Die Induktion der Anthocyanbildung erfolgte durch Bestrahlungen von relativ kurzer Dauer. Nach erfolgter Bestrahlung wurden die Keimlinge wieder in den Brutschrank zurückgebracht. 24 Stunden nach Einsetzen der Belichtung wurde die Extraktion des in der Zwischenzeit im Dunkeln gebildeten Anthocyans vorgenommen. Für die Extraktion wurden Kotyledonen und Hypokotyl verwendet, die farblose Keimwurzel wurde abgeschnitten. Die Extraktion des Anthocyans erfolgte mit 25% Propanol — 1% HCl für 24 Stunden. Nach Einsetzen der Extraktion wurden die Kölbchen für 1 Minute in kochendes Wasser getaucht, um die Extraktion zu fördern. Als Maß für die Konzentration des Anthocyans in der Lösung wurde die Extinktion bei 530 mμ (Beckman-Spektrophotometer), als Maß für die Lichtstreuung in der Lösung wurde die Extinktion bei 650 mμ bestimmt. Diese Werte lagen stets zwischen 0,025 und 0,050. Da sie also niedrig und praktisch in allen Versuchen befriedigend konstant waren, so hat die Lichtstreuung bei Anwendung obiger Extraktionsmethoden keinen nennenswerten Einfluß auf die relative Messung der Anthocyankonzentration. Da die chemische Identifizierung der in den *Sinapis*-Keimlingen vorhandenen Anthocyane noch nicht erfolgt ist, so kann die gemessene Extinktion nicht in absolute Anthocyanmengen umgerechnet werden. Erwähnt sei, daß das Absorptionsspektrum des durch sehr kurze Belichtung (5 Minuten) induzierten Anthocyans mit dem Absorptionsspektrum des durch lange Belichtung (mehrere Stunden) induzierten Anthocyans übereinstimmt.

Für 5 ml Lösungsmittel wurden 12 oder 14 Keimlinge verwendet. Im allgemeinen lag dann die Extinktion zwischen 0,25 und 1,0. In diesem Bereich ist, wie Verdünnungsreihen zeigten, das Beersche Gesetz streng gültig.

3. Experimentelle Ergebnisse

a) Begriffe und Definitionen. Als Infrarotstrahlung wird die physiologisch wirksame Strahlung im Bereich des langwelligen Rot ($\lambda > 700$ mμ) und des nahen Infrarot bezeichnet, als Rotlicht der Bereich zwischen 600 und 700 mμ. Die Photoreaktionen, die bereits bei Einstrahlung einer relativ kleinen Energiemenge weitgehend abgesättigt sind, werden, um der Kürze willen, Niederenergiereaktionen (low energy-reactions) genannt, diejenigen Photoreaktionen, die die Einstrahlung einer großen Energiemenge erfordern, werden als Hochenergiereaktionen (high energy-reactions) bezeichnet.

b) Das Längenwachstum des Hypocotyls im Dunkeln. Bei längerdauernden Experimenten mit monochromatischer Strahlung, in denen grüne oder ergrünende Pflanzen benutzt werden, muß man wohl immer damit rechnen, daß die Beobachtung der morphogenetischen Wirkung verschiedener Spektralbereiche durch einen Einfluß der Photosynthese erheblich gestört werden kann. In unseren Experimenten haben wir versucht, einen Einfluß der durch die Photosynthese erfolgenden Stoff- und Energieproduktion dadurch weitgehend zu vermeiden, daß wir sehr frühe Keimlingsstadien benutzten, wo offenbar das Ausmaß des Längenwachstums noch nicht durch einen Mangel an Kohlenhydraten begrenzt wird (Abb. 1). Entsprechend dem in Abb. 1 dargestellten Ergebnis wurden alle Beeinflussungen des Hypocotylwachstums am 2. und 3. Tag nach der Transplantation durchgeführt, in einem Bereich also, wo man noch keine Begrenzung des Längenwachstums durch einen Mangel an Reservestoffen anzunehmen braucht. Am Ende des 3. bzw. zu Beginn des 4. Tages nach der Transplantation wurde die Länge des Hypocotyls gemessen. Die Induktion der Anthocyanbildung erfolgte stets zu Beginn des 2. Tages nach der Transplantation, die Extraktion des Anthocyans 24 Stunden später.

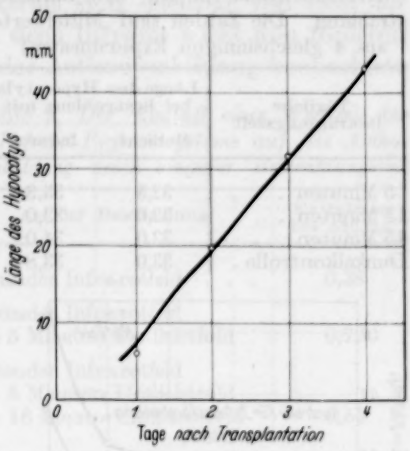

Abb. 1. Das Längenwachstum des Hypocotyls im Dunkeln (26° C)

c) Der Einfluß relativ kurzer täglicher Bestrahlungen auf das Längenwachstum des Hypocotyls (Untersuchung der Niederenergiereaktion). In der Einleitung ist auf die zahlreichen Arbeiten der vergangenen Jahre hingewiesen worden, in denen gezeigt wurde, daß schon durch sehr kurze Bestrahlungen das Längenwachstum bestimmter Organe, z. B. des Bohnenhypocotyls stark gehemmt werden kann. Es mußte angenommen werden, daß auch das *Sinapis*-Hypocotyl durch kurze tägliche Bestrahlungen in ähnlicher Weise beeinflußt werden würde. Es wurden deshalb die Keimlinge zu Beginn des 2. und 3. Tages im Rotlicht- bzw. Infrarotfeld 5, 15 oder 45 Minuten bestrahlt. Das überraschende Ergebnis zeigt Tabelle 1. Die verwendete Strahlung verursacht keine feststellbaren Abweichungen vom Dunkelwachstum, was, wenigstens für die Rotlichtbestrahlung, ein unerwartetes Resultat ist. Auch durch Erhöhung der Zahl der Keimlinge pro Station auf 40 ließ sich keine signifikante Abweichung von der Dunkelkontrolle bei 2×15 Minuten Bestrahlung erzielen. Man könnte deshalb annehmen, daß das dieser

Niederenergiereaktion bei anderen Keimlingen zugrunde liegende Rot-Infrarot-Pigmentsystem in den *Sinapis*-Keimlingen nicht vorhanden oder mindestens nicht nachweisbar ist. Im nächsten Abschnitt wird indessen gezeigt werden, daß das reversible Rot-Infrarot-Pigmentsystem in den *Sinapis*-Keimlingen durchaus nachgewiesen werden kann.

Tabelle 1. *Das Resultat einer zweimaligen Bestrahlung von relativ kurzer Dauer mit Rotlicht oder Infrarot.* (Bestrahlung am 2. und 3. Tag nach der Transplantation im Standardlichtfeld für Rot- und Infrarotstrahlung. Die Zahlen sind Mittelwerte aus 4 gleichsinnigen Experimenten)

Tägliche Bestrahlungszeit	Länge des Hypocotyls bei Bestrahlung mit	
	Rotlicht	Infrarot
5 Minuten . . .	32,3	33,3
15 Minuten . . .	32,0	33,0
45 Minuten . . .	33,0	34,0
Dunkelkontrolle .	33,0	33,8

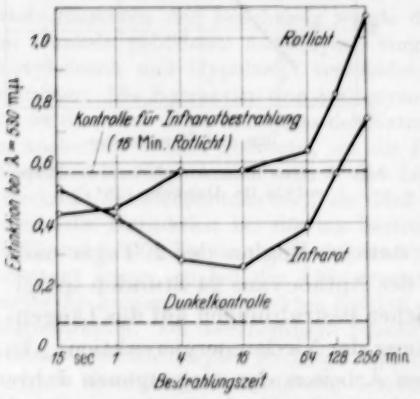

Abb. 2. Der Einfluß von Rot- und Infrarotstrahlung auf die Anthocyanbildung (Rotlicht- und Infrarotfeld). Die mit Infrarot bestrahlten Keimlinge wurden vorher 16 Minuten im Rotlichtfeld bestrahlt. (Beachte die Abszisseneinteilung)

d) Der Einfluß von Rotlicht und Infrarot auf die Anthocyanbildung. Zugrunde lag die Beobachtung, daß die Keimlinge im Dunkeln nur ganz wenig Anthocyan bilden, daß aber schon sehr kurze Belichtungen eine beträchtliche Anthocyanbildung ermöglichen. Dies ließ auf die Beteiligung einer Niederenergiereaktion schließen, und man konnte annehmen, daß das Rot-Infrarot-Pigmentsystem beteiligt sein würde, zumal SIEGELMAN und HENDRICKS (1957a) zeigen konnten, daß die durch Belichtung geförderte Anthocyansynthese in Rotkohlkeimlingen von dem reversiblen Rot-Infrarot-Pigmentsystem beeinflußt wird. Die bei den *Sinapis*-Keimlingen vorliegenden Verhältnisse lassen sich aus Abb. 2 ersehen. Abb. 2 kann folgendermaßen gedeutet werden: Die Anthocyanbildung in den Keimlingen wird von 2 Photoreaktionen beherrscht, einer Niederenergiereaktion und einer Hochenergiereaktion. Das der Niederenergiereaktion zugrunde liegende Pigmentsystem ist offenbar mit dem reversiblen Rot-Infrarot-Pigmentsystem identisch. Den Zustand, bei dem das reversible Pigmentsystem in der Rotlicht absorbierenden Form vorliegt, wollen wir den „Rotzustand" der anthocyanbildenden Zelle nennen, den Zustand, bei dem das reversible Pigmentsystem in der Infrarot absorbierenden Form vorliegt, wollen wir den „Infrarotzustand" der Zellen nennen. Wir können nun sagen: Wenn die Zellen durch Rotlichtbestrahlung in den Infrarotzustand

versetzt werden, so sind sie in der Lage, Anthocyan zu bilden. Eine offenbar nur noch partiell mögliche Rückführung der Zellen in den Rotzustand, was durch Infrarotstrahlung geschehen kann, setzt die Fähigkeit zur Anthocyanbildung wieder herab. Unter den herrschenden Versuchsbedingungen sind im Rotlichtfeld etwa 5 Minuten, im Infrarotfeld etwa 16 Minuten Bestrahlung für den erreichbaren maximalen Effekt der Niederenergiereaktion ausreichend. Wird länger bestrahlt, so tritt eine andere Photoreaktion in Erscheinung, die eine Hochenergiereaktion ist und deren Aktionsspektrum sich offenbar von dem der Niederenergiereaktion unterscheidet, denn Infrarot wirkt nun fördernd auf die Anthocyanbildung. Das bei der Anthocyanbildung beobachtete Fehlen einer vollständigen Reversibilität im Bereich der Niederenergiereaktion (der Roteffekt kann durch Infrarot nicht mehr total unterdrückt werden), hängt wahrscheinlich damit zusammen, daß bei Bestrahlung mit Infrarot zwei auf die Anthocyanbildung entgegengesetzt wirkende Photoreaktionen ablaufen.

Tabelle 2. *Der Einfluß eines Wechsels des Rot-Infrarot-Pigmentsystems auf die Anthocyanbildung nach längerer Bestrahlungszeit*

Art der Bestrahlung	Extinktion bei 530 mμ
2 Stunden Infrarotfeld . . .	0,38
2 Stunden Infrarotfeld + 5 Minuten Rotlichtfeld .	0,72
2 Stunden Infrarotfeld + 5 Minuten Rotlichtfeld + 16 Minuten Infrarotfeld	0,54

Vielleicht wird das bei der Induktion der Blütenbildung, beim Blattwachstum und bei der Etiolementverhinderung ebenfalls beobachtbare Phänomen, daß der Roteffekt der Niederenergiereaktion durch folgende Infrarotbestrahlung nicht vollständig rückgängig gemacht werden kann, durch ähnliche Verhältnisse bedingt. Auch der von Hendricks und Borthwick (1954) und Downs (1956) berichtete Befund, daß bei der Beeinflussung der Blütenbildung kurze Bestrahlungen mit Infrarot der vorausgegangenen Rotlichtbestrahlung entgegen wirken, längere Bestrahlungen mit Infrarot aber mehr im Sinn des Rotlichts wirken, kann vielleicht durch eine ähnlich komplizierte Verknüpfung von Nieder- und Hochenergiereaktion erklärt werden.

Auch dann, wenn die Hochenergiereaktion schon lange ihren Einfluß auf die Anthocyanbildung ausübt, ist ein Wechsel in dem Zustand des reversiblen Pigmentsystems von größter Bedeutung für das Ausmaß der Anthocyanbildung. Ein entsprechendes Experiment zeigt Tabelle 2. Nach 2 Stunden Bestrahlung im Infrarotfeld ist in den Zellen die Bildung einer bestimmten Anthocyanmenge induziert, obwohl sich die Zellen, hinsichtlich der Niederenergiereaktion, in dem für die Anthocyanbildung ungünstigen Rotzustand befinden. Werden nun aber die Zellen durch 5 Minuten Rotlichtbestrahlung in den Infrarotzustand versetzt, so steigt ihre Fähigkeit zur Anthocyanbildung sprunghaft an. Wird nach den 5 Minuten Rotlicht wieder für 16 Minuten Infrarot gegeben, so wird die Fähigkeit zur Anthocyanbildung wieder verringert.

Die Ergebnisse dieses Abschnitts zeigen, daß das reversible Rot-Infrarot-Pigmentsystem in den Keimlingen vorhanden ist, obwohl es hinsichtlich der Beeinflussung des Hypocotylwachstums nicht nachgewiesen werden konnte. Warum sich der Rot- bzw. Infrarotzustand der Zellen bei diesem Objekt nicht nachweisbar auf das Längenwachstum auswirkt, ist unklar. Die weitere Aufgabe besteht nun zunächst darin, das Aktionsspektrum der Hochenergiereaktion der Anthocyanbildung zu bestimmen.

c) Das Aktionsspektrum der Hochenergiereaktion der Anthocyanbildung. Um das richtige Aktionsspektrum der Hochenergiereaktion zu finden, müssen wir darauf achten, daß sich die anthocyanbildenden Zellen hinsichtlich der Niederenergiereaktion in einem einheitlichen Zustand befinden. Deshalb wurden nach der für die Untersuchung der Hochenergiereaktion notwendigen vierstündigen Bestrahlung mit dem Spektrum des Spektrographen die Keimlinge für 5 Minuten mit Rotlicht im Rotlichtfeld bestrahlt. Dadurch wurden die Keimlinge hinsichtlich der Niederenergiereaktion in denselben Infrarotzustand versetzt. Daß sich die Zellen während der vierstündigen Bestrahlung mit dem Spektrographen nicht in demselben Zustand hinsichtlich der Niederenergiereaktion befanden, konnte nicht verhindert werden, jedoch zeigten Versuche über die noch mögliche Veränderung des Zustandes des Rot-Infrarot-Pigmentsystems nach 2 oder 4 Stunden Rotlicht, daß die daraus resultierende Störung nicht erheblich sein kann. Das gewonnene Aktionsspektrum zwischen 550 und 800 mμ zeigt Abb. 3, Ergebnisse im Blaubereich Tabelle 3. Das Aktionsspektrum hat einen markanten Gipfel im Bereich um 710 mμ und einen anderen Gipfel im Blaubereich. Auch den kleinen Gipfeln zwischen 550 und 700 mμ kommt vielleicht Realität zu. Sie sind in allen gewonnenen Aktionsspektren in sehr ähnlicher Position aufgetreten und können, wie Messungen zeigten, nicht auf kleine Intensitätsunterschiede in den entsprechenden Teilen des Spektrums zurückgeführt werden.

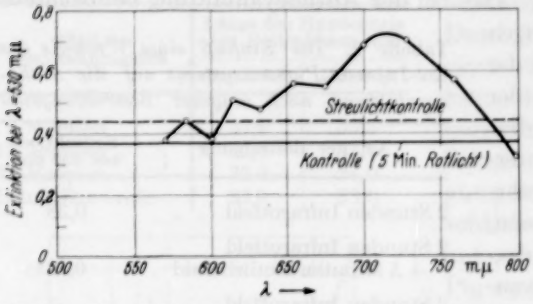

Abb. 3. Das Aktionsspektrum der Anthocyanbildung zwischen 570 und 800 mμ bei hoher Energieeinstrahlung. (Belichtungszeit: 4 Stunden zu Beginn des 2. Tags nach der Transplantation. Intensität: etwa 3500 erg/cm^2 · sec ± 10 %.) Die Streulichtkontrollen, die sich in der Nachbarschaft des langwelligroten Bereichs befanden, waren gegen direkte Bestrahlung durch Metallplatten abgeschirmt

Die im Blaulicht gewonnenen Werte sind nur bedingt mit den Resultaten im langwelligen Bereich vergleichbar. (Dasselbe gilt für das Hypocotylwachstum.) Einmal mußten aus räumlichen Gründen Gefäße anderer Größe verwendet werden, andererseits war, wegen der Verschmälerung der bestrahlten Fläche (s. Methodik) eine etwas abweichende und in den verschiedenen Teilen des Blaubereichs wechselnde Anordnung der Keimlinge notwendig.

Das von SIEGELMAN und HENDRICKS (1957) beobachtete Aktionsspektrum der Hochenergiereaktion der Anthocyanbildung bei Rotkohlkeimlingen hat seinen Gipfel um 690 mμ, auch das für Rübenkeimlinge festgestellte Aktionsspektrum scheint von dem Aktionsspektrum der *Sinapis*-Keimlinge etwas verschieden zu sein, obwohl eine große Ähnlichkeit besteht. Eine Niederenergiereaktion ließ sich bei den Rübenkeimlingen nicht nachweisen. Die für die Anthocyanbildung bei Äpfeln aufgestellten Aktionsspektren zeigen ebenfalls den Gipfel im Rotbereich um 650 mμ und einen offenbar signifikanten Nebengipfel um 605 mμ. Im Blaubereich trat stets ein weiterer, mehr oder minder stark ausgeprägter Gipfel der Aktionsspektren auf (um 450 mμ).

Tabelle 3. *Der Einfluß von Strahlung des blauen Spektralbereichs auf die Anthocyanbildung bei hoher Energieeinstrahlung.* (Bestrahlungszeit: 4 Stunden zu Beginn des 2. Tages nach der Transplantation. Intensität: etwa 3500 erg/cm² · sec. Station 455 mμ erhielt etwa die halbe Intensität)

Wellenlänge (mμ)	Extinktion bei 530 mμ
Kontrolle (5 Min. Rotlicht)	0,37
Streulichtkontrolle	0,49
403	0,51
443	0,60
455	0,59
469	0,63
486	0,56

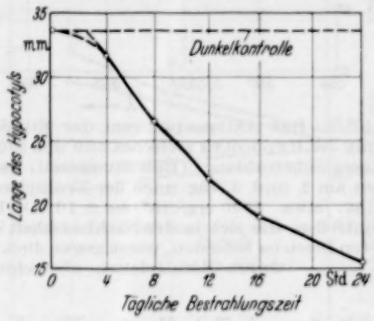

Abb. 4. Der Einfluß der täglichen Belichtungszeit auf das Längenwachstum des Hypocotyls. (Belichtung am 2. und 3. Tag nach der Transplantation im Fluorescenzweißlichtfeld, 410 fc. mit Weston-Photometer.) Die Extrapolation zwischen 4 und 0 Stunden ist unsicher

Bei der Betrachtung des langwelligen Spektralbereichs scheint zunächst eine verwirrende Mannigfaltigkeit der der Hochenergiereaktion der Anthocyanbildung zugrunde liegenden Pigmentsysteme vorzuliegen. Es dürfte aber wahrscheinlicher sein, daß ein einziges, allgemein verbreitetes Pigmentsystem, das im Blau und im langwelligen sichtbaren Bereich Gipfel der Absorption besitzt, allen betrachteten Hochenergiereaktionen zugrunde liegt. Die Verschiebung des Gipfels der Absorption im langwelligen Bereich bei den einzelnen untersuchten Objekten kann vielleicht auf geringfügige und für die jeweilige Species bezeichnende Veränderungen in einer Komponente des beteiligten Pigmentsystems zurückgeführt werden (s. Diskussion).

f) Das Aktionsspektrum der Hochenergiereaktion der Etiolementverhinderung. Aus Abb. 4 geht hervor, daß selbst 4 Std täglicher Belichtung sich nur sehr wenig auf das Hypocotylwachstum auswirken.

Dies bestätigt die Befunde von Tabelle 1 und zeigt an, daß für die Beeinflussung des Hypocotylwachstums hohe Energieeinstrahlung notwendig ist. (Um einen Eindruck von der Variabilität des verwendeten Materials zu geben, seien für die Werte von Abb. 4 die mittleren Fehler genannt. Sie liegen zwischen 0,7 [für 15,5] und 1,6 [für 33,6] bei Verwendung von 20 Keimlingen.)

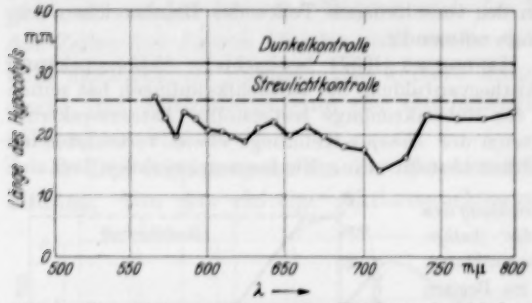

Abb. 5. Das Aktionsspektrum der Etiolementverhinderung des Hypocotyls zwischen 560 und 800 mμ bei hoher Energieeinstrahlung. (Belichtungszeit: Täglich 16 Stunden am 2. und 3. Tag nach der Transplantation. Intensität: etwa 3500 erg/cm² · sec ± 10 %.) Die Streulichtkontrollen, die sich in der Nachbarschaft des langwelligroten Bereichs befanden, waren gegen direkte Bestrahlung durch Metallplatten abgeschirmt

Um das Aktionsspektrum dieser Beeinflussung zu finden, wurden die Keimlinge am 2. und 3. Tag nach der Transplantation jeweils 16 Stunden bestrahlt. Das Resultat zeigen Abb. 5 und Tabelle 4. Ein Vergleich dieses Aktionsspektrums mit dem Aktionsspektrum der Hochenergiereaktion der Anthocyanbildung ergibt, daß die Aktionsspektren weitgehend identisch sind. Dies ist das wichtigste Resultat dieser Arbeit. Man kann daraus den Schluß ziehen, daß das Längenwachstum des Hypocotyls weitgehend von *einer* Photoreaktion beherrscht wird und daß offenbar dasselbe Pigmentsystem die Energie absorbiert, die einerseits im Syntheseweg des Anthocyans benützt wird und die andererseits in dem Stoffwechsel gewisser Zellen jene Veränderungen verursacht, die letztlich zu der morphologisch beobachtbaren Hemmung des Längenwachstums der Hypocotyle führen.

Tabelle 4. *Der Einfluß von Strahlung des blauen Spektralbereichs auf das Längenwachstum des Hypocotyls.* (Bestrahlungszeit: täglich 16 Stunden am 2. und 3. Tag nach der Transplantation. Intensität: etwa 3500 erg/cm² · sec. Station 455 mμ erhielt etwa die halbe Intensität)

Wellenlänge (mμ)	Hypocotyllänge (mm)
Dunkelkontrolle	32,1
Streulichtkontrolle	27,8
403	28,4
443	23,7
455	20,6
486	21,4
495	25,9

g) Der Einfluß roter und blauer Strahlung verschiedener Intensitäten auf die Anthocyanbildung und das Hypocotylwachstum. (Experimente mit Rot- oder Blaulicht emittierenden Fluorescenzröhren.) Aus den gewonnenen Aktionsspektren kann man den Schluß ziehen, daß ein und dasselbe Pigmentsystem dem Strahlungseinfluß auf die Anthocyan-

bildung und auf das Längenwachstum zugrunde liegt. Die folgenden Experimente haben das Ziel, weitere Beweise für diese Identität aufzufinden. Wenn man z. B. den Einfluß des Lichts zweier verschiedenfarbiger Strahlungsquellen (rote und blaue Fluorescenz-Röhren) einmal hinsichtlich der Anthocyanbildung und einmal hinsichtlich der Etiolementverhinderung untersucht und sich dabei in beiden Fällen ein sehr ähnliches Verhältnis der Wirksamkeit der beiden Strahlungsquellen ergibt, so wäre dies eine weitere Stütze für die Auffassung, daß die beiden Pigmentsysteme identisch sind. (Sollte sich kein ähnliches Verhältnis der Wirksamkeit der beiden Strahlungsquellen für die beiden Prozesse ergeben, so wäre dies natürlich kein strenger Beweis gegen die Identität der beiden Photorezeptoren, da sehr wohl weitere Komplikationen, z. B. verschiedene Quantenausbeuten, möglich wären.)

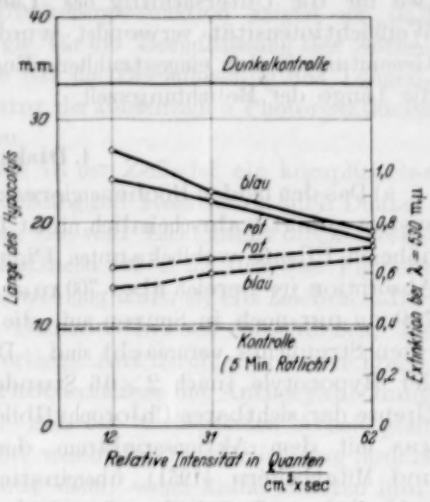

Abb. 6. Der Einfluß blauen und roten Fluorescenzlichtes verschiedener Intensitäten (in Quanten/cm² · sec) auf das Längenwachstum des Hypocotyls und auf die Anthocyanbildung. (Belichtungszeit: 2 Stunden für Anthocyanbildung zu Beginn des 2. Tages nach der Transplantation; 48 Stunden Dauerlicht [2. und 3. Tag nach Transplantation] für die Etiolementverhinderung.) In erg/cm² · sec ist die Intensität für 1 relative Einheit im Rotlicht etwa 40 erg/cm² · sec; gemessen hinter 5 cm Wasserfilter. – – – – Anthocyan; ——— Hypocotylwachstum

Die experimentellen Bedingungen waren folgende: Es erwies sich als günstig, die Intensitäten nur im Verhältnis von etwa 1:5 abzustufen. Eine größere Verschiedenheit der Intensitäten, die an sich erwünscht wäre, hätte zu stärkeren und störenden Temperaturunterschieden in den Gefäßen geführt. Die Ergebnisse von Vorversuchen, die verschieden starke Emission der roten und blauen Röhren und die räumlichen Verhältnisse in den Fluorescenzlichtkammern machten es ferner wünschenswert, im Rot- und Blaulicht etwa gleiche Intensitäten in Quanten/cm² · sec einzustrahlen. Die Messung der relativen Intensitäten erfolgte mit einem Westonphotometer, das für die Rot- und Blaulichtröhren mit Hilfe eines Thermosäulen-Galvanometersystems geeicht worden war.

In Abb. 6 finden sich die Ergebnisse. Die einzelnen Punkte sind Mittelwerte aus jeweils 4 gleichsinnigen Experimenten. Das Resultat bestätigt die Auffassung, daß dasselbe Pigmentsystem den photochemischen Primärprozeß für beide Hochenergiereaktionen durchführt.

Die Varianzanalyse ergab, daß sowohl beim Längenwachstum wie bei der Anthocyanbildung die Unterschiede zwischen den Werten der einzelnen Intensitäten (als Gesamtheit genommen) statistisch gesichert sind (beim Längenwachstum

sehr gut, bei der Anthocyanbildung knapp), daß aber die Unterschiede zwischen den Rot- und Blaukurven in beiden Fällen nicht genügend signifikant sind.

Auf einen besonders interessanten Zug der Kurven von Abb. 6 sei noch hingewiesen: Besonders die Extrapolation gegen die Intensität 0 = Dunkelkontrolle zeigt, daß schon geringe Intensitäten, als Dauerlicht gegeben, einen erheblichen Einfluß ausüben. Ein Vergleich mit Abb. 4 (wo für die Untersuchung des Längenwachstums eine relativ hohe Weißlichtintensität verwendet wurde) deutet an, daß offenbar die Gesamtmenge der eingestrahlten Energie weit weniger wichtig ist als die Länge der Belichtungszeit.

4. Diskussion

a) Das den beiden Hochenergiereaktionen zugrunde liegende Pigmentsystem gehört wahrscheinlich nicht in den Kreis der für die Zelle der höheren Pflanze wohlbekannten Pigmente. Dagegen spricht die starke Absorption im Bereich über 700 mμ. Chlorophyll tritt im Bereich über 700 mμ nur noch in Spuren auf, die wohl durch die geringen Mengen roten Streulichts verursacht sind. Die besonders bei der Betrachtung der Hypocotyle (nach 2×16 Stunden Belichtung) auffallend scharfe Grenze der sichtbaren Chlorophyllbildung liegt im Bereich um 690 mμ, was mit dem Aktionsspektrum der Chlorophyllbildung von KOSKI und Mitarbeitern (1951) übereinstimmt. Der bei langer Belichtung beobachtbare Antagonismus zwischen Chlorophyll- und Anthocyanbildung kann nur angedeutet werden. Es ist wahrscheinlich so, daß mit zunehmendem Chlorophyllgehalt das Anthocyan wieder schwindet. Ein erheblicher Einfluß dieser Dynamik auf das Aktionsspektrum der Anthocyanbildung bei 4 Stunden Belichtung ist unwahrscheinlich. Daß das sich bei längerer Belichtung in erheblicher Menge bildende Chlorophyll infolge Schirmwirkung einen starken, modifizierenden Einfluß auf das Aktionsspektrum der Etiolementverhinderung hat, ist nicht anzunehmen, denn das Aktionsspektrum der Anthocyanbildung (4 Stunden Belichtung, nur wenig Chlorophyll gebildet) stimmt mit dem Aktionsspektrum der Etiolementverhinderung (2×16 Stunden Belichtung, viel Chlorophyll) ja auffallend auch im Bereich hoher Absorption des Chlorophylls überein.

b) SIEGELMAN und HENDRICKS (1957) nehmen an, daß Cu-Flavoproteine die diesen Hochenergiereaktionen zugrunde liegenden Pigmente sind. Die Blauabsorption ginge auf den Flavinanteil, die Absorption im langwelligen Bereich des sichtbaren Spektrums auf den Schwermetallanteil zurück. Ein entsprechendes Cu-haltiges Pigment, die prosthetische Gruppe der Butyryl-Coenzym A-Dehydrase in ihrer oxydierten Form, ist von MAHLER (1954, 1956) beschrieben worden. Durch relativ geringfügige Veränderungen in dem Schwermetallanteil könnte

die beobachtete Variation der Aktionsspektren im langwelligen Bereich verursacht sein. Beobachtungen von EDMONDSEN und THIMANN (1950) geben einen Hinweis, daß Kupfer an der Anthocyanbildung beteiligt ist, ebenso die Befunde von SIEGELMAN und HENDRICKS (1957b), daß bei Äpfeln zwischen der Fähigkeit zur Anthocyanbildung und dem Cu-Gehalt eine strenge Korrelation besteht.

c) Die Aktionsspektren der Hochenergiereaktion zeigen an, daß dasselbe Pigment sowohl die Energie für die Beeinflussung der Anthocyanbildung wie auch die Energie für die Beeinflussung des Längenwachstums absorbiert. Über die Natur der ablaufenden Photoreaktionen läßt sich indessen nur wenig sagen.

1. Die Synthese des Anthocyans in der Zelle ist ein komplizierter Vorgang, an dem neben strahlungsabhängigen Reaktionen auch Dunkelreaktionen (d. h. solche Reaktionen, die vom Licht nicht direkt beeinflußt werden) beteiligt sind. Bezeichnend ist z. B., daß das Pigment erst längere Zeit nach erfolgter Bestrahlung auftritt, ein Zeichen dafür, daß sich an die Photoreaktion Dunkelreaktionen anschließen, bis schließlich das fertige Anthocyan vorliegt. Auf die oft diskutierte Frage, ob das Licht über Produkte der Photosynthese die Anthocyanbildung fördert, sei nur kurz hingewiesen. Aus der vorliegenden Arbeit geht hervor, daß ein solcher Einfluß nicht wesentlich ist. Belichtung fördert die Anthocyansynthese natürlich nur dann, wenn keine anderen limitierenden Faktoren vorhanden sind. Nach einigen Stunden Belichtung ist z. B. auch die Hochenergiereaktion abgesättigt, und weitere Belichtung fördert die Anthocyansynthese nicht mehr. Offenbar sind dann in den anthocyanbildenden Zellen die Voraussetzungen für weitere Anthocyansynthese nicht mehr gegeben, wahrscheinlich, weil ein nur in beschränktem Ausmaß vorhandener Vorläufer des Anthocyanmoleküls, an dem die Photoreaktion ansetzt, aufgebraucht ist. An welcher Stelle des Synthesewegs des Anthocyans die Strahlungsenergie der Hochenergiereaktion benützt wird, ist noch nicht klar. SIEGELMAN und HENDRICKS (1957) vermuten jedoch, daß die Hochenergiereaktion mit der Bildung des heterocyklischen oder des B-Rings des Anthocyanmoleküls oder mit der Bildung von Vorläufern für diese Ringe zu tun hat. Das reversible Rot-Infrarot-Pigmentsystem hat wahrscheinlich einen mehr allgemeinen Einfluß auf das Stoffwechselgeschehen der Zellen und dürfte sich mehr indirekt auf das Ausmaß der Anthocyansynthese auswirken. Der Punkt (oder die Punkte) im Syntheseweg des Anthocyans, wo diese Beeinflussung erfolgt, muß, nach unseren Ergebnissen, zwischem dem Punkt, wo die Hochenergiereaktion abläuft und dem fertigen Anthocyan liegen.

2. Da es den Anschein hat, daß tatsächlich die ältere ergrünte Pflanze hinsichtlich ihres Längenwachstums ein anderes Reaktions-

vermögen auf monochromatische Strahlung besitzt als der Keimling in seinen frühen Stadien, so soll eine Diskussion der in neuerer Zeit besonders von WASSINK und Mitarbeitern (s. Einleitung) untersuchten Verhältnisse hier unterbleiben. Es wird eine Aufgabe künftiger Forschung sein, mit neuen technischen Hilfsmitteln dem Wechsel im Reaktionsvermögen auf Strahlung, der sich offenbar während der Entwicklung der Pflanze vollzieht, nachzugehen.

Man konnte natürlich nicht von vornherein annehmen, daß das meßbare Aktionsspektrum der Etiolementverhinderung des Hypocotyls eine einzige Photoreaktion repräsentieren würde. Im Keimling laufen, wenn er bestrahlt wird, viele Photoreaktionen gleichzeitig ab, und man muß zunächst erwarten, daß ein so kompliziertes Stoffwechselgeschehen, wie es dem Hypocotylwachstum zugrunde liegt, an mehreren Stellen durch absorbierte Strahlungsenergie erheblich beeinflußt werden kann oder daß dieses Stoffwechselgeschehen korrelativ mit anderen Vorgängen, an denen Photoreaktionen beteiligt sind, wie etwa dem Keimblätterwachstum, eng verknüpft ist. Die Identität der Aktionsspektren der beiden Hochenergiereaktionen macht es indessen sehr wahrscheinlich, daß tatsächlich eine einzige Photoreaktion im wesentlichen das Längenwachstum des Hypocotyls steuert. Auf eine Komplikation muß jedoch hingewiesen werden: Orientierende Versuche hinsichtlich der phototropischen Reaktion der Keimlinge bestätigten die Resultate von BÜNNING (1937): Lediglich kurzwellige Strahlung kann die phototropische Krümmung veranlassen. (Die Keimlinge wurden 8 Stunden lang mit dem Spektrographen unter Zwischenschaltung von Streulichtfiltern seitlich belichtet.) Es liegt also im Blaulicht eine weitere Photoreaktion vor. Der Einfluß der für die phototropische Krümmung im Blaulicht verantwortlichen Reaktion auf das Längenwachstum des Hypocotyls bei vertikaler Einstrahlung ist noch nicht genügend geklärt. Aus den in dieser Arbeit dargelegten Versuchsdaten kann man jedoch ableiten, daß dieser Einfluß wahrscheinlich nicht beträchtlich ist.

Welche Vorgänge sich zwischen der Energieabsorption und der unmittelbar beobachtbaren Hemmung des Hypocotylwachstums abspielen, ist nicht bekannt. Man könnte annehmen, daß die Strahlung sich auf die Zellteilung hemmend auswirkt, wie es schon bei geringer Energieeinstrahlung am *Avena*-Mesocotyl festgestellt wurde oder daß die Strahlung das Längenwachstum der Zellen beeinflußt, wie es bei Anwendung höherer Intensitäten am *Avena*-Mesocotyl beobachtet werden konnte (GOODWIN 1941). Folgende Vorstellungen scheinen den bisherigen Versuchsergebnissen gerecht zu werden: Die phototropische Reaktion geht auf eine unmittelbare Beeinflussung des Längenwachstums der Hypocotylzellen durch die kurzwellige Strahlung zurück. Der starke hemmende Einfluß der untersuchten Hochenergiereaktion auf

das Längenwachstum des Hypocotyls dagegen ist, wie das Fehlen der phototropischen Krümmung im langwelligen Bereich anzeigt, mehr indirekt. Wahrscheinlich findet die Hochenergiereaktion in den Keimblättern statt, von wo aus dann das Längenwachstum des Hypocotyls beeinflußt wird (vgl. BÜNNING 1941). Ob die Prozesse in den *Sinapis*-Keimblättern so ablaufen, wie es BÜNNING (1941) angenommen hat, der eine lichtinduzierte Inaktivierung des Auxins in den Keimblättern für wesentlich hielt, läßt sich nicht sagen. Vielleicht ist die Angabe von WAGENKNECHT und BURRIS (1950), daß das IES inaktivierende Enzym wahrscheinlich Cu-haltig ist, ein Hinweis in dieser Richtung. Andererseits berichten aber GALSTON und BAKER (1949), daß lediglich kurzwelliges Licht bei der Photoaktivierung des IES-Oxydase-Systems wirksam sei.

d) Es werden weitere Untersuchungen nötig sein um die Frage zu klären, ob die hier an *Sinapis alba*-Keimlingen gefundenen Verhältnisse hinsichtlich der Hochenergiereaktion der Etiolementverhinderung auf diese Art beschränkt sind oder ob es sich um allgemeinere Phänomene handelt. Da die Cruciferen offenbar hinsichtlich des Aktionsspektrums der Blühinduktion von anderen Pflanzenfamilien verschieden sind (STOLWIJK 1952), so muß man immerhin damit rechnen, daß diese Pflanzengruppe auch hinsichtlich anderer Phänomene Eigentümlichkeiten zeigt.

Summary

a) Some photoreactions influencing the early stages of the development of mustard seedlings (*Brassica alba* Boiss. = *Sinapis alba* L.) were studied, using monochromatic radiation (400—800 mμ) from a spectrograph.

b) Anthocyanin formation is light-dependent in these seedlings and is controlled by two photoreactions. One of these photoreactions is governed by the well-known red-far-red-pigment system and is practically saturated after a very short time of irradiation (low-energy reaction). The other photoreaction for anthocyanin formation is a high-energy reaction. Its action spectrum was determined. There was an action throughout the visible spectrum with peaks in the far-red region (about 710 mμ) and in the blue region.

c) The action spectrum for the influence of radiation between 400 and 800 mμ was also determined for the lengthening of the hypocotyl. It is practically identical with the action spectrum for the high-energy reaction of anthocyanin formation. This photoreaction which essentially controls the lengthening, is also a high-energy reaction. These facts and results of additional experiments with colored fluorescent tubes indicate that the same pigment system absorbs the energy which

controls formation of anthocyanin and lengthening of the hypocotyl. A significant effect of the reversible red-far-red-pigment system on the lengthening of the hypocotyl could not be obtained.

d) The region of action indicates that the pigment that is involved in the high-energy reactions might be a copper-flavoprotein.

The author is greatly indebted to Dr. H. A. BORTHWICK and to his coworkers for their friendly hospitality, generous assistance and advice and for the use of experimental facilities. He is similarly indebted to Dr. S. B. HENDRICKS and to Dr. H. W. SIEGELMAN for continual guidance and enlightening discussions as well as for inestimable technical advice and assistance. The invaluable aid of Mrs. A. GRIFFITH is very much appreciated for typing of the manuscript.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei auch an dieser Stelle für das gewährte Auslandsstipendium gedankt.

Literatur

ÅBERG, B.: Physiologische und ökologische Studien über die pflanzliche Photomorphose. Symbolae bot. Upsaliensis **8**, 5—189 (1943). — ARTHUR, J. M.: Red pigment production in apples by means of artificial light sources. Contrib. Boyce Thompson Inst. **4**, 1—18 (1932). — Radiation and anthocyanin pigments. In: Biological effects of radiation, B. M. DUGGAR, ed., Vol. II, p. 1109—1118. New York: McGraw-Hill 1936. — BORTHWICK, H. A., S. B. HENDRICKS and M. W. PARKER: Action spectrum for inhibition of stem growth in dark-grown seedlings of albino and nonalbino barley (Hordeum vulgare). Bot. Gaz. **113**, 95—105 (1951). — The reaction controlling floral initiation. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **38**, 929—934 (1952). — BORTHWICK, H. A., S. B. HENDRICKS, E. H. TOOLE and V. K. TOOLE: Action of light on lettuce-seed germination. Bot. Gaz. **115**, 205—225 (1954). — BÜNNING, E.: Phototropismus und Karotinoide. III. Weitere Untersuchungen an Pilzen und höheren Pflanzen. Planta (Berl.) **27**, 583—610 (1937). — Über die Verhinderung des Etiolement. Ber. dtsch. bot. Ges. **59**, 2—9 (1941). — BURKHOLDER, P. R.: The role of light in the life of plants. II. The influence of light upon growth and differentiation. Bot. Rev. **2**, 97—172 (1936). — CROCKER, W.: Growth of plants. New York: Reinhold Publishing Co. 1948. — DOWNS, R. J.: Photoreversibility of leaf and hypocotyl elongation of dark grown Red Kidney bean seedlings. Plant Physiol. **30**, 468—473 (1955). — Photoreversibility of flower initiation. Plant Physiol. **31**, 279—284 (1956). — EDMONDSEN, Y. H., and K. V. THIMANN: The biogenesis of the anthocyanins. II. Evidence for the mediation of copper in anthocyanin synthesis. Arch. of Biochem. **25**, 79—90 (1950). — FORTANIER, E. J.: Some observations on the influence of spectral regions of light on stem elongation, flower bud opening and leaf movement in Arachis hypogea L. Meded. Landbouwhogeschool Wageningen **54**, 103—115 (1954). — GALSTON, A. W., and R. S. BAKER: Studies on the physiology of light action. II. The photodynamic action of riboflavin. Amer. J. Bot. **36**, 773—780 (1949). — GOODWIN, R. H.: On the inhibition of the first internode of Avena by light. Amer. J. Bot. **28**, 325—332 (1941). — GOODWIN, R. H., and O. v. H. OWENS: The effectiveness of the spectrum in Avena internode inhibition. Bull. Torrey Bot. Club **78**, 11—21 (1951). — HENDRICKS, S. B., and H. A. BORTHWICK: Time dependencies in photoperiodism. 8. Congr. internat. de Bot., Sect. 11, S. 323—324. Paris 1954. — KOSKI, V. M., C. S. FRENCH, and J. H. C. SMITH: The action spectrum for the transformation of protochlorophyll to chlorophyll a in normal and albino corn seedlings. Arch. of Biochem. a. Biophysics **31**, 1—17

(1951). — Lange, S.: Über den Einfluß weißen und roten Lichtes auf die Entwicklung des Mesokotyls bei Haferkeimlingen. Jb. Bot. **71**, 1—25 (1929). — Mahler, H. R.: Studies on the fatty acid oxidizing system of animal tissues. IV. The prosthetic group of butyryl Coenzyme A dehydrogenase. J. of Biol. Chem. **206**, 13—26 (1954). — Nature and function of metallo-flavoproteins. Adv. Enzymol. **17**, 233—291 (1956). — Mohr, H.: Die Beeinflussung der Keimung von Farnsporen durch Licht und andere Faktoren. Planta (Berl.) **46**, 534—551 (1956). — Parker, M. W., S. B. Hendricks, H. A. Borthwick and N. J. Scully: Action spectrum for the photoperiodic control of floral initiation of short-day plants. Bot. Gaz. **108**, 1—26 (1946). — Parker, M. W., S. B. Hendricks, H. A. Borthwick and F. W. Went: Spectral sensitivities for leaf and stem growth of etiolated pea seedlings and their similarity to action spectra for photoperiodism. Amer. J. Bot. **36**, 194—204 (1949). — Siegelmann, H. W., and S. B. Hendricks: Photocontrol of anthocyanin formation in turnip and red cabbage seedlings. Plant Physiol. **1957**a (in press). — Photocontrol of anthocyanin synthesis in apple subepidermal tissue. Plant Physiol. **1957**b (in preparation). — Stolwijk, J. A. J.: Photoperiodic and formative effects of various wavelength regions in Cosmos bipinnatus, Spinacia oleracea, Sinapis alba and Pisum sativum. Proc. Kon. Ned. Akad. v. Wetensch. C **55**, 489—502 (1952). — Wave length dependence of photomorphogenesis in plants. Meded. Landbouwhogeschool Wageningen **54**, 181—244 (1954). — Wagenknecht, A. C., and R. H. Burris: Indoleacetic acid inactivating enzymes from bean roots and pea seedlings. Arch. of Biochem. **25**, 30—53 (1950). — Wassink, E. C., and J. A. J. Stolwijk: Effects of light quality on plant growth. Annual Rev. Plant Physiol. **7**, 373—400 (1956). — Weintraub, R. L., and E. D. McAlister: Developmental physiology of the grass seedling. I. Inhibition of the mesocotyl of Avena sativa by continuous exposure to light of low intensities. Smith. Misc. Coll. **101**, No 17, 1—10 (1942). — Weintraub, R. L., and L. Price: Developmental physiology of the grass seedling. II. Inhibition of mesocotyl elongation in various grasses by red and by violet light. Smith. Misc. Coll. **106**, No 21, 1—15 (1947). — Went, F. W.: Effects of light on stem and leaf growth. Amer. J. Bot. **28**, 83—95 (1941). — Withrow, R. B.: Response of seedlings to various wavebands of low intensity irradiation. Plant Physiol. **16**, 241—256 (1941). — Withrow, R. B., W. H. Klein, L. Price and V. Elstad: Influence of visible and near infrared radiant energy on organ development and pigment synthesis in bean and corn. Plant Physiol. **28**, 1—14 (1953).

Dr. H. Mohr, Tübingen, Botanisches Institut der Universität,
z. Z. U.S. Department of Agriculture, Plant Industry Station,
Beltsville, Maryland, U.S.A.

Planta, Bd. 49, S. 406—434 (1957)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Heidelberg

DIE PIGMENTE DER CENTROSPERMEN ALS SYSTEMATISCHES ELEMENT

II. UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS IONOPHORETISCHE VERHALTEN

Von

HANS REZNIK

Mit 10 Textabbildungen

(Eingegangen am 30. März 1957)

I. Einleitung

In einer bereits erschienenen Veröffentlichung („Die Pigmente der Centrospermen" 1. Teil, 1955)[1] hatten wir mitgeteilt, daß die gesamte Ordnung der Centrospermen in ihrem chymochromen Pigmentapparat eine Sonderstellung einnimmt. An Stelle der normalen Anthocyane, wie sie von allen übrigen Phanerogamen-Familien als kennzeichnende Produkte des Phenylpropanstoffwechsels gebildet werden, finden sich hier im Zellsaft rote und gelbe Pigmente von noch ungeklärter Konstitution, die durch den Besitz von Stickstoff charakterisiert sind. Man nennt diese Stoffe Stickstoff-Anthocyane (N-Anthocyane, Betanine, Flavocyanine). Einen prototypischen Vertreter dieser in präparativer Hinsicht dem Chemiker manche Schwierigkeit bereitenden Stoffklasse stellt das Pigment der Roten Rübe, das Betanin dar. In jüngster Zeit sind in der Kenntnis des Farbstoffs der Roten Rübe einige Fortschritte erzielt worden.

SCHMIDT und SCHÖNLEBEN (1956) machten auf das von den Anthocyanen stark abweichende ionophoretische Verhalten des Betanins aufmerksam. Dem Betanin kommt der Charakter eines Zwitterions zu. Im stark sauren Bereich unterhalb p_H 2,0 wandert der Farbstoff als violettes Kation, bei p_H 4,6 hingegen strebt der nach rot umgeschlagene Farbstoff der Anode zu. Der IEP dürfte bei p_H 2 liegen. Was den Stickstoff betrifft, so ist er an das Pigment nur locker gebunden, er läßt sich bereits in der sauren Ionenaustauschersäule vom Pigmentmolekül entfernen (SCHMIDT 1957, mündliche Mitteilung). Für das ionophoretische Verhalten des Betanins sind nach SCHMIDT und SCHÖNLEBEN 2 Carboxylgruppen verantwortlich. Diese bedingen auch den stark hydrophilen Charakter der Verbindung.

In einer weiteren Veröffentlichung (LINDSTEDT 1956) wurde über die Elektrophorese der gesamten chymochromen Pigmentfraktion aus der Roten Rübe berichtet und mitgeteilt, daß sich auch die gelben Farbstoffe der Roten Rübe (s. ARONOFF und ARONOFF 1948, REZNIK 1955) im elektrischen Feld wie die Betanine verhalten. In jüngster Zeit (WYLER und DREIDING 1957) gelang die Herstellung

[1] Teil I, Z. Bot. 43, 499—530 (1955).

von kristallisiertem Betanin und die Aufnahme einer spezifischen Extinktionskurve dieses Farbstoffes.

Da im ersten Teil der vorliegenden Arbeit nachdrücklich auf die nahe Verwandtschaft des Betanins der Roten Rübe mit den übrigen roten und gelben Centrospermen-Pigmenten hingewiesen worden war, ergab sich jetzt die Notwendigkeit, das elektrophoretische Verhalten möglichst vieler Centrospermen-Farbstoffe zu eruieren. Dabei konnten auch jene Familien eingehend untersucht werden, die wie die Cactaceen und Aizoaceen (Mesembryanthemaceen) im ersten Teil etwas kursorisch behandelt worden waren.

Um das wesentliche Resultat gleich vorwegzunehmen, können wir die Feststellung treffen, daß alle untersuchten N-Anthocyane, rote wie gelbe Pigmente, sich während der Elektrophorese wie das Betanin der Roten Rübe verhalten. Auch die spektroskopischen Daten sprechen für enge strukturelle Beziehungen dieser Pigmente zueinander. Die Ionophorese, vor allem die Hochspannungs-Ionophorese war außerdem vorzüglich geeignet, bei der Vielzahl der Farbstoffe charakteristische Unterschiede hinsichtlich der Ionenmobilität und auch geringfügige Unterschiede in der Lage des IEP (zwischen p_H 1—3) deutlich zu machen.

Den Absichten unserer Untersuchung entsprach es auch, wenn wir der Copigmentierung, die vorzüglich auf der Gegenwart von Flavonol-3-glycosiden und Oxyzimtsäuren beruht, unsere Aufmerksamkeit schenkten. Dem Charakter der vorliegenden Untersuchung wäre nicht vollständig Genüge getan, wenn nicht schließlich versucht werden würde, die physiologische Bedeutung der Anwesenheit der Betanine und der Abwesenheit der Anthocyane im Zellstoffwechsel der Centrospermen näher zu betrachten. Dies erscheint um so dringender, als ja gerade die Anthocyane als Stoffwechsel-Indicatoren par excellence aufzufassen sind, und daher der Gedanke naheliegt, daß die Centrospermen-Pigmente stellvertretend auch für die Indicator-Funktion der normalen Anthocyane sind.

II. Methodisches

a) Extraktion. Die pigmentierten Pflanzenteile wurden homogenisiert und mit Wasser, bzw. Puffer, Wasser-Methanol-Gemischen (1:1, v/v, 1:2, v/v) oder reinem Methanol bei Zimmertemperatur oder bei + 3° C extrahiert. Die Extrakte wurden durch Abnutschen von den Rückständen befreit. Durch Zentrifugieren bei etwa 4000×g wurden weitere, eine Trübung des Extraktes verursachende Ballaststoffe entfernt. Die so gewonnenen Farbstofflösungen wurden entweder sofort weiter verarbeitet oder bei + 3° C im Dunklen aufbewahrt.

Da Betanine und Flavocyanine in Methanol nur schwer löslich sind, wurde den wäßrigen Extraktionsmitteln der Vorzug gegeben. Flavonolhaltige Pflanzenteile wurden außerdem auch in der Soxhlet-Apparatur extrahiert.

b) Papierchromatographie. Einzelheiten finden sich in einer früheren Publikation (Reznik 1956). Folgende Entwicklungsgemische wurden angewendet:

1. Solvens nach NORDSTRÖM und SWAIN (n-Butanol-Eisessig-Wasser, 6:1:2, v/v/v) für die Glycosidfraktion (abgekürzt: NS).

2. Äthylacetat-Ameisensäure-Wasser (10:2:3, v/v/v) für die Glycosidfraktion.

3. Solvens nach FORESTAL (Eisessig-Wasser-Salzsäure, 30:10:3, v/v/v), für die Glycosid- und Hydrolysatfraktionen.

c) Säurehydrolyse. Zur Deglucosidierung der Betanine und Flavocyanine ist die saure Hydrolyse (mit halbkonzentrierter HCl im Wasserbad 8—15 min) ein zu drastisches Verfahren. Die Säurehydrolyse wurde daher vornehmlich zur Freisetzung der Flavonol-Aglucone verwendet. Bei einigen Objekten gelang unter sehr vorsichtigen Bedingungen eine enzymatische Hydrolyse mit β-D-Glucosidase.

d) Enzymatische Hydrolyse. 1 ml Substrat wurden mit 1 ml Enzymlösung (1% β-D-Glycosidase in Acetat-Puffer nach WALPOLE, p_H 4,6) versetzt und 16 Std bei 40° C inkubiert. Parallel: Enzym- und Substratkontrollen. Das Reaktionsprodukt wurde zusammen mit der Enzym- und Substratkontrolle papierchromatographisch und ionophoretisch getrennt (s. im Versuchsteil S. 415 bei *Beta vulgaris* [Sorte „Rote Kugel"] und S. 430 bei *Opuntia soerensii*).

e) Papierchromatographie der Hydrolysate: s. REZNIK (1956).

f) Niederspannungs-Ionophorese. Verwendet wurde das kommerzielle Multelphor-Gerät nach GRASSMANN und HANNIG, das die Trennung auf 6 Pherogrammstreifen gleichzeitig ermöglicht.

Puffer: Acetat-Puffer nach WALPOLE, p_H 4,6 μ = 0,15, Phosphatpuffer nach SÖRENSEN, p_H 6,6 μ = 0,066.

Die Betanine und Flavocyanine wandern oberhalb des IEP anodisch. Spannung 120 V, Spannungsgefälle 3,93 V/cm, Laufzeit 6—7 Std. Nähere Angaben finden sich in Kapitel III und im Versuchsteil.

g) Hochspannungs-Ionophorese. Die Niederspannungs-Ionophorese weist neben dem Vorteil, eine mühelose Differentialdiagnose zwischen Anthocyanen und Betaninen bzw. Flavocyaninen zu ermöglichen, auch den Nachteil zu geringer Trennschärfe auf, wenn es sich um Pigmentgemische handelt. So wird ein aus mehreren Betaninen sich zusammensetzender Extrakt nicht oder nur unvollkommen getrennt, da die elektrischen Eigenschaften der N-Anthocyane, wahrscheinlich infolge der Anwesenheit von Carboxylgruppen (s. SCHMIDT und SCHÖNLEBEN und LINDSTEDT 1956), sich sehr ähnlich sind.

Wir wandten daher auch die Hochspannungs-Ionophorese an und können hier von ausgezeichneten Resultaten berichten. Uns stand ein Hochspannungs-Elektrophorese-Gerät nach WIELAND-PFLEIDERER („Pherograph", Modell 1957, der Fa. Hormuth und Vetter, Heidelberg-Wiesloch) zur Verfügung, das wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft verdanken.

Als Träger diente uns Spezialpapier der Fa. Macherey und Nagel MN 214, das ein Arbeiten im halbpräparativen Maßstab ermöglichte. Mit folgenden Puffersystemen wurde getrennt:

Phosphat-Puffer nach SÖRENSEN, p_H 6,64, Ionenstärke 0,066: ausgezeichnete Trennung. Acetat-Puffer nach WALPOLE, p_H 4,62, Ionenstärke 0,15. Citrat-Salzsäure-Puffer, p_H 2.0, nahe dem IEP.

Die Puffer aller Elektrodengefäße wurden nach jedem Trennungslauf wieder vereinigt, da die Ionenverschiebungen sehr beträchtlich waren. Auf Papierbögen (MN 214) vom Format 33 × 40 cm wurde 10 cm von einer Schmalkante entfernt eine Auftrag-Linie markiert. Der Bogen wurde hierauf in dem zur Trennung verwendetem Puffer gebadet und schließlich der größte Teil des Puffers wieder aus dem Papier herausgepreßt. Die Trennung erfolgte bei — 2° C, 1600 V und 60 mA und dauerte bei günstigen Bedingungen (p_H 6,64 oder 4,62) 2 Std, bei Puffern nahe dem IEP entsprechend länger. Spannungsgefälle 30—40 V/cm.

Die Pigmentzonen wurden in Puffer eluiert und von den Eluaten die Extinktionsspektren aufgenommen. Gerät: Unicam-Spektralphotometer SP 500 mit Sekundärelektronenvervielfacher. Auch von präparativen Papierchromatogrammen wurden entsprechende Eluate hergestellt und spektroskopisch untersucht.

h) Chelate, Spray-Reaktionen. Bei den Blüten sehr vieler Centrospermen treten Glycoside des Quercetins und Kaempferols auf. Zu ihrer Unterscheidung lassen sich folgende diagnostische Schritte vornehmen:

1. Absorptionsspektren der methanolischen Flavonol-Lösungen (Abb. 1).

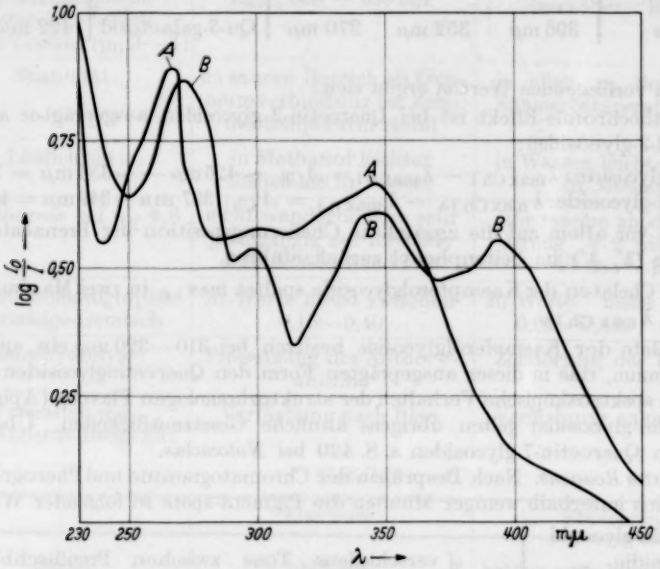

Abb. 1. Extinktionsspektrum des Kaempferol-3-glucosids. *A* in Methanol. λ_{max} 346 mμ, 267 mμ. *B* Aluminium-Chelat in Methanol, λ_{max} 395 mμ, 350 mμ, 270 mμ

Glycosid	Kaempferol		Glycosid	Quercetin	
	λ_{max} n 1	λ_{max} n 2		λ_{max} n 1	λ_{max} n 2
Kae-3-glucosid	346 mμ	267 mμ	Qu-3-glucosid	358 mμ	257 mμ
Kae-3-rhamno-glucosid	349 mμ	267 mμ	Qu-3-rhamnosid	354 mμ	257 mμ
Kae-3-robinosido-7-rhamnosid (Robinin)	350 mμ	267 mμ	Qu-3-rutinosid	358 mμ	263 mμ
Kae-3-glycosid aus *Dianthus*	351 mμ	266 mμ	Qu-3-galactosid	359 mμ	256 mμ
λ_{max} n 1 — λ_{max} n2 = 87 mμ			λ_{max} n 1 — λ_{max} n 2 = 100 mμ		

Bei den Quercetinglycosiden sind die beiden Absorptionsmaxima weiter auseinander gerückt.

2. Dieser Unterschied läßt sich durch die Herstellung von Chelatbindungen noch vertiefen (Reznik 1956). Nach Zusatz von 0,2 ml einer 3%igen $AlCl_3$-Lösung in Methanol stellt man folgende charakteristische bathochrome Verschiebungen fest (3 ml-Küvette):

	Kaempferol				Quercetin	
	λ_{max} Ch 1a	λ_{max} Ch 1b	λ_{max} Ch 2		λ_{max} Ch 1	λ_{max} Ch 2
Kae-3-glucosid	395 mμ	350 mμ	270 mμ	Qu-3-glucosid	422 mμ	273 mμ
Kae-3-rhamno-glucosid	398 mμ	350 mμ	273 mμ	Qu-3-rhamnosid	430 mμ	274 mμ
Kae-3-robinosido 7-rhamnosid	399 mμ	349 mμ	275 mμ	Qu-3-rutinosid	426 mμ	274 mμ
Kae-3-glycosid aus *Dianthus*	396 mμ	352 mμ	270 mμ	Qu-3-galactosid	422 mμ	275 mμ

Aus den vorliegenden Werten ergibt sich:

Der Bathochromie-Effekt ist bei Quercetin-3-glycosiden ausgeprägter als bei Kaempferol-3-glycosiden:

Quercetin-glycoside: $\lambda_{max\,Ch\,1} - \lambda_{max\,n\,1} = \Delta_{Ch}$; ~426 mμ − ~356 mμ = 70 mμ
Kaempferol-glycoside: $\lambda_{max\,Ch\,1a} - \lambda_{max\,n\,1} = \Delta_{Ch}$; 397 mμ − 349 mμ = 48 mμ.

Dies ist vor allem auf die zusätzliche Chelierungsposition der Brenzcatechingruppierung (3′, 4′) im Seitenphenyl zurückzuführen.

Bei den Chelaten der Kaempferolglycoside spaltet $max_{1\,n}$ in zwei Maxima auf: $\lambda_{max\,Ch\,1a}$, $\lambda_{max\,Ch\,1b}$.

Die Chelate der Kaempferolglycoside besitzen bei 310—320 mμ ein auffällig steiles Minimum, das in dieser ausgeprägten Form den Quercetinglycosiden fehlt.

Für das spektroskopische Verhalten der strukturhomologen Flavone (Apigenin- und Luteolin-glycoside) gelten übrigens ähnliche Gesetzmäßigkeiten. Über die Chelate von Quercetin-7-glycosiden s. S. 429 bei *Notocactus*.

BENEDICTS *Reagens*. Nach Besprühen der Chromatogramme und Pherogramme verfärben sich innerhalb weniger Minuten die Pigment-spots in folgender Weise:

Cyanidin-glycosid, Delphinidin-„, Paeonidin-„, Malvidin-„ → verschiedene Töne zwischen Preußischblau und grünstichigem Blau
Pelargonidin-„ → schmutziges nach lila spielendes Grau
Betanine → braunrot-hellbraun

Das Besprühen der Chromatogramme mit $AlCl_3$ führte auch bei Flavocyaninen zu einer Farbvertiefung und Stabilisierung. Auch Betanin-spots können mit $AlCl_3$ stabilisiert werden.

III. Allgemeine Charakteristik der Flavocyanine und Betanine

Als Gruppenbezeichnung für die Stickstoff und Carboxylgruppen enthaltenden labilen roten Anthocyane der Centrospermen wird der Terminus „Betanine" vorgeschlagen. Für die Stickstoff und Carboxylgruppen enthaltenden labilen gelben Anthocyane der Centrospermen wird in Anlehnung an ROBINSON die Bezeichnung „Flavocyanine" gewählt. In welchen Eigenschaften diese Pigmente von den Anthocyanen im engeren Sinne und den Flavonen und Flavonolen abweichen, ist bereits mitgeteilt worden (REZNIK 1955, 1956).

In zwei kurzen Tabellen seien die wichtigsten der Differentialdiagnose dienlichen Unterschiede der gelösten Pigmente zusammengefaßt.

Tabelle 1

	Anthocyane	Betanine
Farbumschlag:	unter p_H 4—6 = rot über p_H 7 = blau	unter p_H 2 = permanganat-lila, p_H 2—8 = violett-rot, über p_H 8 = permanganat-lila.
Spektroskopische Daten in schwach saurer Lösung (p_H 3—4)	$\lambda_{max\,1}$ 505 — 538 mμ	$\lambda_{max\,1}$ 525 — 538 mμ
Stabilität:	im sauren Bereich als Oxoniumverbindung bei Zimmertemperatur stabil	in allen p_H-Bereichen bei Zimmertemperatur unstabil.
Löslichkeit:	in Methanol leichter löslich als in Wasser	in Wasser leichter löslich als in Methanol.
Ionophorese bei p_H 4,6	nicht wandernd oder sehr geringfügig zur Kathode oder Anode wandernd	sehr rasche anodische Wanderung +2 bis +7 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$.
Papierchromatographie Partridge-Gemisch	R_f-Werte meist zwischen 0,15—0,40	R_f-Werte meist zwischen 0,02—0,12.
Säurehydrolyse:	Freisetzung der Anthocyanidine	Zerstörung der Pigmente.
Verhalten mit Benedicts Reagens:	Verfärbung nach Blau	Verfärbung nach Rotbraun.

Tabelle 2

	Flavonole	Flavocyanine
Farbe:	blaßgelb	kräftig gelb bis orange-gelb.
Farbvertiefung mit $AlCl_3$:	kräftig zitronen-gelb	kräftig gelborange bis orange.
Beständigkeit der Lösung:	bei Raumtemperatur stabil	bei Raumtemperatur innerhalb weniger Stunden ausbleichend.
Spektroskopische Daten:	$\lambda_{max\,1}$ 345 — 360 mμ	$\lambda_{max\,1}$ 476 — 485 mμ.
Löslichkeit:	in Methanol leichter löslich als in Wasser	in Wasser leichter löslich als in Methanol.
Ionophorese bei p_H 4,6:	nicht wandernd	sehr rasche anodische Wanderung +2,0 bis +8,0 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$.
Papierchromatographie R_f-Werte im Partridge-Gemisch	0,38—0,85	0,07—0,22.
Säurehydrolyse:	Freisetzung der Flavonol-Aglucone	Zerstörung der Pigmente.

Schmidt und Schönleben (1956) konnten nachweisen, daß es sich bei dem Farbstoff der Roten Rübe um ein Zwitterion handelt, dessen

Eigenschaften im elektrischen Feld auf der Anwesenheit von mindestens 2 Carboxylgruppen beruhen dürften. Der Farbstoff liegt in stark saurer Lösung, unterhalb p_H 2,0, als violettes Kation, bei größerem p_H-Wert als rotes Anion vor. Eine Prüfung der ionophoretischen Eigenschaften sämtlicher von uns getesteten Betanine und Flavocyanine ergab, daß diese Pigmente sich grundsätzlich wie das Betanin der Roten Rübe verhielten. Der IEP der Betanine liegt zwischen p_H 1,5 und 2,0, der IEP der Flavocyanine zwischen p_H 1 und 2,5.

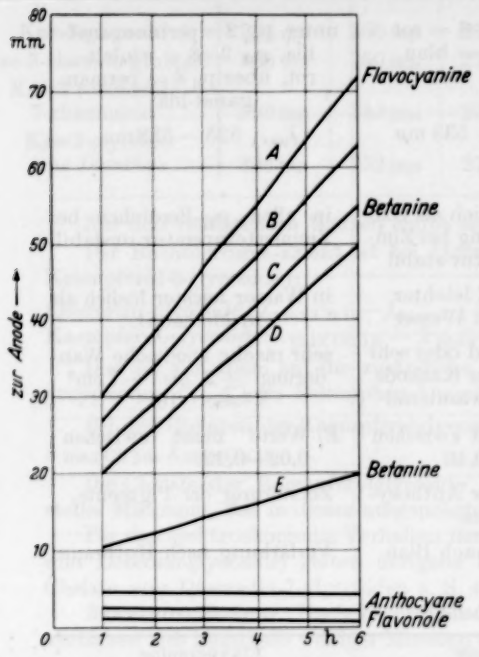

Abb. 2. Schematisches Diagramm über die elektrophoretische Wanderung einiger charakteristischer N-Anthocyane bei p_H 4,6. *A—E* s. Text S. 412

Die Stickstoff-Anthocyane wanderten bei p_H 4,6 sämtlich ziemlich rasch zur Anode, jedoch mit verschiedener Geschwindigkeit. Bei der Niederspannungs-Elektrophorese ließen sich unter Zugrundelegung der Ionen-Beweglichkeit charakteristische Unterschiede zwischen den einzelnen Betanin- und Flavocyaningruppen feststellen, die wir in einem halbschematischen Diagramm zusammenfassen (Abb. 2).

A: Flavocyanine folgender Centrospermen-Genera: *Pleiospilos*, *Conophytum*, *Rhombophyllum*, *Lithops*, *Glottiphyllum*, *Faucaria*, *Bergeranthus*, *Notocactus*, *Lobivia*: $+8\ cm^2\ V^{-1}\ sec^{-1} \cdot 10^{-5}$.

Abb. 3. Schema eines Pherogramms bei p_H 6,64: Trennung eines orangegelben Pigmentextraktes aus Beta vulgaris („Frankes Rekord") in 10 Farbstoff-Zonen

B: Betanine von *Amarantus*, *Celosia*: $+7\ cm^2\ V^{-1}\ sec^{-1} \cdot 10^{-5}$.

C: Betanine von *Malephora*, *Gymnocalycium*, *Lobivia*, *Conophytum*: $+5{,}5\ cm^2\ V^{-1}\ sec^{-1} \cdot 10^{-5}$.

D: Betanine von *Beta*, *Mirabilis*: $+4{,}5\ cm^2\ V^{-1}\ sec^{-1} \cdot 10^{-5}$.

E: Betanine von *Beta*: $+3{,}8\ cm^2\ V^{-1}\ sec^{-1} \cdot 10^{-5}$.

Noch einprägsamer treten derartige Unterschiede bei Anwendung der Hochspannungsionophorese hervor, wie das Beispiel der Pigmente einer gelbschaligen Futterrübe erkennen läßt. Während in der Niederspannungsionophorese nur 3 pigmentierte Zonen auftreten, gelingt im Hochspannungspherogramm mühelos die Auftrennung in 10 durch ihre spektralen Eigenschaften wohl unterschiedene Komponenten (Abb. 3).

IV. Die Pigmentausstattung einzelner Centrospermen-Familien

(s. auch Teil I, 1955)

Chenopodiaceen

Beta vulgaris. Wie in den einleitenden Abschnitten gebührend hervorgehoben, hat der Farbstoff der Roten Rübe wieder großes Interesse gefunden. Nicht allein der Biochemiker verspricht sich hier ein erfolgreiches Feld: auch von genetischer Seite hat die Pigmentation der *Beta*-Rüben Beachtung erfahren, wie eine neuere zusammenfassende Übersicht (BANDLOW 1955) erkennen läßt.

Herr Prof. KNAPP vom Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung Rosenhof stellte uns freundlicherweise sortenechtes Material zur Verfügung. Neben einer roten Speiserübe (Sorte „Rote Kugel") analysierten wir auch die Farbstoffausrüstung einer langgestreckten Futterrübe (Sorte „Frankes Rekord"), die in den Rindenpartien stark orange gefärbt ist. Auch das Fleisch ist mehr oder weniger gelb pigmentiert. Schließlich untersuchten wir noch eine Futterrübe von walzlicher Form (Sorte „Kirsches Ideal"), deren gelbe Rindenteile ein fast farbloses Fleisch umhüllen. Als 4. Objekt stand uns eine Futterrübe unbekannter Provenienz zur Verfügung.

Die Hochspannungsionophorese, die wir zu verschiedenen Malen und auch unter verschiedenen Extraktionsbedingungen wiederholten, zeigte uns, daß nicht weniger als 16 N-Anthocyane, davon 4 Betanine und 12 Flavocyanine in den verschiedenen Rübensorten vorhanden sind (Tabelle 3 und 4). Was die Pigmentation der Roten Rübe anbelangt, so finden sich manche ihrer Pigmente (so z. B. die Flavocyanine 12, 13, 15) auch in den Futterrüben wieder, darunter das zitronfarbene Flavocyanin 12 als koloristisch ausschlaggebende Komponente (bei „Kirsches Ideal" und bei der unbekannten Sorte). Andere Pigmente hingegen scheinen nur der Roten Rübe eigen zu sein, wie auch andererseits besonders die orange gefärbten Flavocyanine der Sorte „Frankes Rekord" für bestimmte Futterrüben typisch sein könnten. Schon diese erste Eruierung des Pigmentsystems der Rüben offenbart uns viele spezifische Unterschiede, die es als wünschenswert und auch für den praktischen Züchter als notwendig erscheinen lassen, die Pigmentierung möglichst vieler Sorten kennen zu lernen, da die Farbstoffe zur Identifizierung der Sorten, zur Auslese von Sämlingen und anderem benutzt werden könnten.

Tabelle 3. *Die Pigment-Ausstattung verschiedener Beta-Rüben*

Nr.	Pigment	Farbe	Sorten			
			Rote Rübe „Rote Kugel"	Futterrübe unbekannte Sorte	Futterrübe „Frankes Rekord"	Futterrübe „Kirsches Ideal"
1	Betanin	violett	+1			
2	Flavocyanin	orange			+3	
3	Flavocyanin	orange-gelb	+1			
4	Flavocyanin	gelb			+2	
5	Flavocyanin	orange		+1	+3	
6	Betanin	violett-rot	+3			
7	Betanin	violett-rot	+5			
8	Flavocyanin	gelb			+1	
9	Flavocyanin	orange-gelb			+1	
10	Flavocyanin	orangegelb-			+1	+1
11	Betanin	violett	+1			
12	Flavocyanin	zitron	+4	+3	+5	+3
13	Flavocyanin	orange-gelb	+2	+1	+1	
14	Flavocyanin	orange-gelb			+1	
15	Flavocyanin	zitron	+1	+1	+1	
16	Flavocyanin	gelb	+1		+1	

Die Zahlen hinter dem +-Zeichen geben die relative Konzentration an: 5 = sehr viel, 1 = sehr wenig (Spuren).

Auch bestehen ja zweifellos Korrelationen zwischen der Pigmentausrüstung und bestimmten anderen Eigenschaften (Zucker-, Proteingehalt).

Die Numerierung der Farbstoffe in Tabelle 3 erfolgte nach ihrer ionophoretischen Beweglichkeit bei p_H 6,64, wie auch der folgenden Tabelle 4, die überdies von den wichtigsten Farbstoffen noch die Absorptionsdaten bringt, zu entnehmen ist. In der 3. Spalte von Tabelle 4

Tabelle 4. *Ionophoretische und spektroskopische Charakteristik der Beta-Pigmente. Ionophorese: 1250 V, 60 mA, Spannungsabfall 31,2 V/cm. Temperatur = 0,0° C*

Pigment	λ_{max}	Ionenmobilität bei p_H 2,0 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$	Ionenmobilität bei p_H 6,64 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$
1		+0,42	+0,91
2	4,86 264 mμ	+0,46	+1,48
3			+1,7
4	476, 264 mμ	+0,46	+2,4
5	475, 256 mμ	+0,46	+2,77
6	536, 266 mμ	+0,42	+3,6
7	536, 256 mμ	+0,42	+4,13
8			+3,7
9			+4,5
10		−0,57	+5,2
11			+5,9
12	475, 258 mμ	−1,0	+6,3
13		−0,9	+6,75
14			+7,6
15		−0,9	+7,7
16			+8,5

ist die Ionenmobilität bei p_H 2,0 angegeben: aus den Werten ist ersichtlich, daß wir uns nahe dem IEP der N-Anthocyane befinden. Ein Teil der Flavocyanine läßt bereits kathodische Wanderungstendenz erkennen: bei ihnen liegt also der IEP zwischen p_H 2 und p_H 3.

Von den aufgenommenen Spektra geben wir 2 paradigmatische Kurven (Betanin Nr. 6., Flavocyanin Nr. 3) in Abb. 4 wieder. Die Betaninkurve entspricht weitgehend den von WYLER und DREINING publizierten Daten aus einer Lösung von kristallinem Betanin. Die Flavocyanin-Kurve korrespondiert in ihrem Verlauf so weitgehend mit derjenigen des Betanins (die Hypsochromie natürlich nicht gerechnet), daß es nicht gewagt ist, die nahe strukturelle Verwandtschaft beider Verbindungen zu behaupten, zumal ja auch die anderen Daten (Chromatographie, Ionophorese u. a.) durchaus für diesen Gesichtspunkt sprechen.

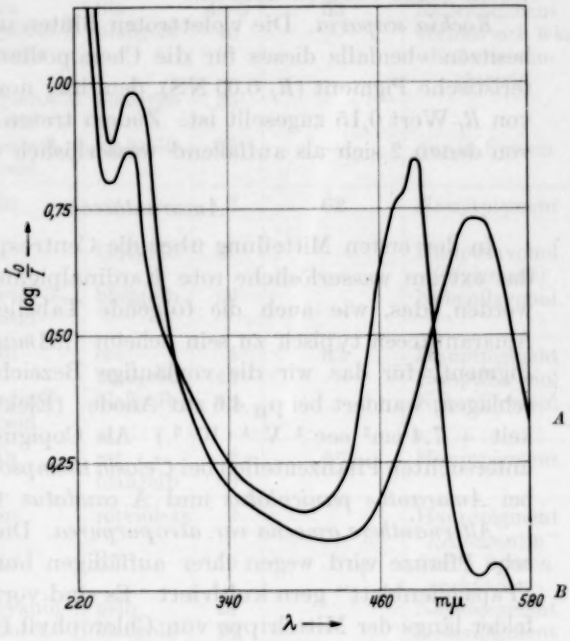

Abb. 4. *Beta vulgaris*, Extinktionsspektren. *A* Betanin aus der Roten Rübe („Rote Kugel"), Pigment Nr. 6, λ_{max} 536,5 mμ, 266 mμ, aufgenommen in Phosphatpuffer p_H 6,64. *B* Orangegelbes Flavocyanin aus einer Futterrübe („Frankes Rekord"), Pigment Nr. 3 (s. Tabelle 3 u. 4), λ_{max} 488 mμ, 263 mμ, in Phosphatpuffer p_H 6,64

Von der Roten Speiserübe („RoteKugel") wurde ein Extrakt in Phosphatpuffer hergestellt und das Pigmentgemisch der enzymatischen Hydrolyse mit β-D-Glucosidase unterworfen. (Inkubation 16 Std bei 20° C; ein Versuch, das Betanin bei 40° C zu deglucosidieren, endete mit der totalen Entfärbung des Pigments). Substratkontrolle und Spaltungsansatz wurden parallel chromatographiert: in den Chromatogrammen des Enzymversuchs traten neben dem Fleck der ungespaltenen Glucoside (R_f 0,03—0,04 im Nordström-Swain-Gemisch) noch zwei weitere violette Pigment-Flecke auf, die durch ihre geringere Wasserlöslichkeit (R_f 0,06 und 0,08 NS) die Deutung nahelegen, es handle sich um Aglucon-Verbindungen. Ähnliche Resultate erzielten wir auch bei *Opuntia soerensii* (s. S. 430).

Chenopodium amaranticolor. Die violettrot überlaufenen Blätter verdanken ihre Farbe einem Betanin (R_f 0,05 NS). Als Copigmente sind 3 Flavonol-glycoside anwesend, und zwar findet sich neben dem Hauptflavonol Rutin noch ein weiteres Quercetin-3-glycosid und ein Kaempferol-3-glycosid. Das rote Pigment scheint dem Betanin aus *Atriplex hortensis* (REZNIK 1955) zu entsprechen. Auch an das Betanin der Roten Rübe wäre zu denken.

Kochia scoparia. Die violettroten Blüten und Sproßteile von *Kochia* besitzen ebenfalls dieses für die Chenopodiaceen anscheinend charakteristische Pigment (R_f 0,05 NS), dem hier noch ein gelbes Flavocyanin von R_f-Wert 0,15 zugesellt ist. Zudem treten 3 Flavonolgylcoside auf, von denen 2 sich als auffallend wasserlöslich erweisen.

Amarantaceen

In der ersten Mitteilung über die Centrospermen-Pigmente war auf das extrem wasserlösliche rote Kardinalpigment aufmerksam gemacht worden, das, wie auch die folgende Tabelle 5 demonstriert, für die Amarantaceen typisch zu sein scheint („*Amarantus*-Pigment"). Dieses Pigment, für das wir die vorläufige Bezeichnung „Amarantin" vorschlagen, wandert bei p_H 4,6 zur Anode. (Elektrophoretische Beweglichkeit $+ 7{,}4\ cm^2\ sec^{-1}\ V^{-1} \cdot 10^{-5}$.) Als Copigmente fanden sich in den untersuchten Pflanzenteilen bei *Celosia thompsonii* Kaempferol-glycoside, bei *Amarantus paniculatus* und A. *caudatus* Quercetin-glycoside.

Alternanthera amoena var. atropurpurea. Diese interessante brasilianische Pflanze wird wegen ihrer auffälligen buntgescheckten Blätter als „Papageienblatt" gern kultiviert. Es sind vornehmlich die Intercostalfelder längs der Mittelrippe von Chlorophyll frei: dort bildet das Amarantin, das auch den chlorophyllführenden Teilen nicht fehlt, leuchtendrote Areale. Eine andere Spielart besitzt gelbgefleckte Blätter, die in ihrem Habitus an das gelb gefleckte Laub von *Croton*-Arten erinnern. Während jedoch bei den *Croton* und vielen anderen Objekten die gelbe Panaschüre auf der Anwesenheit plastidisch gebundener Carotinoide beruht, sehen wir uns hier dem einzigartigen Falle einer durch Flavocyanine, also Vacuolenfarbstoffe, geprägten Laubblattpanaschüre gegenüber. Eine mikroskopische Kontrolle ergab eindeutig die völlige Abwesenheit von Plastiden und die starke Anfärbung der Vacuole durch gelbes Anthocyan.

In Tabelle 6 sind einige Daten über das ionophoretische Verhalten der Pigmente von *Aerua sanguinolenta* und *Iresine lindenii* zusammengefaßt.

Die Hochspannungspherogramme zeigen uns auch bei den Amarantaceen eine Aufspaltung der Betaninfraktion in einzelne Komponenten mit verschiedener Ionenbeweglichkeit. Dieser Befund ist ein weiterer

Tabelle 5

	Pigment	Farbe	$R_f \cdot 100$ BEW 6:1:2 (= NS)	Wanderungsstrecke zur Anode bei pH 4,6 in 6 Std mm	Bemerkungen
Celosia thompsonii (rotviolette Inflorescenzen)	Betanin	rot	2—3	63	Hauptpigment
	Betanin	lila	4—5	63	Nebenpigment
	Kaempferol-3-Glycoside	blaßgelb	46	—	verhält sich wie K-3-rhamnoglucosid
	Kaempferol-3-Glycosid	blaßgelb	30	—	
	Quercetin-3-Glycosid	blaßgelb	56	—	nur in Spuren
Amarantus paniculatus (rote Laubblätter)	Betanin	rot	2	62	Hauptpigment
	Rutin	blaßgelb	47		Hauptflavonol (Copigment)
	Quercetin-3-Glycosid	blaßgelb	56		Nebenflavonol
Amarantus paniculatus (tiefrote Inflorescenzen	Betanin	rot	2	63	Hauptpigment
	Rutin	blaßgelb	45		Hauptflavonol
	Quercetin-3-Glycosid	blaßgelb	58		Nebenflavonol
Amarantus caudatus (tiefrote Inflorescenzen)	Betanin	rot	2	65	Hauptpigment
	Rutin	blaßgelb	50		
Alternanthera amoena (rotgefleckte Blätter)	Betanin	rotviolett	2		Hauptpigment „Amarantin"
	Betanin	rot	10		nur in Spuren vorhanden
	Flavocyanin	gelb	23		Nebenpigment
	Flavonol-3-Glycosid	blaßgelb	38		Nebenpigment
Alternanthera amoena (gelbgefleckte Blätter)	Flavocyanin	gelb	23		Hauptpigment
	Betanin	rot	10		nur Spuren
	Flavonol-3-Glycosid	blaßgelb	39		Nebenpigment

Beweis dafür, daß man die Leistungsfähigkeit papierchromatographischer und niederspannungs-ionophoretischer Verfahren nicht überschätzen sollte. Bei *Aerua* wird das Hauptpigment, das im Pherogramm am weitesten zur Anode wandert (die Ionenmobilität von 4,03 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$ entspricht einer Wanderungsstrecke von 11,6 cm in 2 Std), von 3 allerdings nur in geringer Menge vorhandenen Nebenfarbstoffen begleitet. Das Konzentrationsverhältnis ist etwa 10:1:1:1. Nahe dem IEP, der hier zwischen p_H 1 und 1,9 liegt, wandern die 4 Betanine als einheitliche Fraktion. Ganz ähnlich verhält sich *Iresine lindenii*. Das Hauptpigment, im schwach sauren Gebiet mit 5,5 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$ zur Anode wandernd (das ist eine Wanderungsstrecke von 16,0 cm in

Tabelle 6. *Ionophoretische Beweglichkeit verschiedener Betanine aus Aerua und Iresine. Hochspannungselektrophorese 1600 V, 60 mA, Spannungsabfall: 40 V/cm, Temperatur = 0,5° C*

Name	Pigment	Farbe	Puffer	pH	Ionenmobilität $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$
Aerua sanguinolenta .	Betanin 1	violett	Phosphat	6,64	+ 1,04
Aerua sanguinolenta .	Betanin 1	violett	Acetat	4,6	+ 0,97
Aerua sanguinolenta .	Betanin 1	violett	Citrat	2,0	+ 0,52
Aerua sanguinolenta .	Betanin 2	violett	Phosphat	6,64	+ 2,5
Aerua sanguinolenta .	Betanin 2	violett	Acetat	4,6	+ 1,98
Aerua sanguinolenta .	Betanin 2	violett	Citrat	2,0	+ 0,52
Aerua sanguinolenta .	Betanin 3	violett	Phosphat	6,64	+ 2,84
Aerua sanguinolenta .	Betanin 3	violett	Acetat	4,6	+ 2,44
Aerua sanguinolenta .	Betanin 3	violett	Citrat	2,0	+ 0,52
Aerua sanguinolenta .	Betanin 4	violett	Phosphat	6,64	+ 4,03
Aerua sanguinolenta .	Haupt-	violett	Acetat	4,6	+ 3,46
Aerua sanguinolenta .	Pigment	violett	Citrat	2,0	+ 0,52
Iresine lindenii. . . .	Betanin 1	violett	Phosphat	6,64	+ 3,22
Iresine lindenii. . . .	Betanin 1	violett	Citrat	2,0	+ 0,52
Iresine lindenii. . . .	Betanin 2	violett	Phosphat	6,64	+ 4,68
Iresine lindenii. . . .	Betanin 2	violett	Citrat	2,0	+ 0,52
Iresine lindenii. . . .	Betanin 3	violett	Phosphat	6,64	+ 5,5
Iresine lindenii. . . .	Haupt-	violett	Citrat	2,0	+ 0,52
	pigment				

2 Std) hat noch 2 Betanine als Begleiter. Knapp oberhalb des IEP trennt sich auch die Pigmentgarnitur von *Iresine* nicht mehr.

Nyctaginaceen

Oxybaphus nyctagineus. Eine papierchromatographische Untersuchung der Pigmentausrüstung der kleinen violetten Blüten bestätigte die Angabe ROBINSONS, daß hier ein Stickstoff-Anthocyan vorliege. Wir

Tabelle 7. *Nyctaginaceen- und Phytolaccaceen-Pigmente in ihrem Verhalten bei Niederspannungselektrophorese, 3,93 V/cm, Temperatur = 20° C*

Pflanzenname	Farbstoff	Puffer	pH	Wanderungsgeschwindigkeit zur Anode mm² in 6 Std cm	Ionenmobilität $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$
Mirabilis jalapa . . .	Betanin	Acetat	4,6	5	5,88
Mirabilis jalapa . . .	Flavocyanin	Acetat	4,6	3,8	4,47
Phytolacca decandra .	Betanin 1	Acetat	4,6	3,9	4,58
Phytolacca decandra .	Betanin 2	Acetat	4,6	2,5	2,94
Phytolacca decandra .	Betanin 3	Acetat	4,6	1,2	1,41

fanden ein langsam wanderndes rotes Betanin (R_f 0,04 NS) und ein violettes Betanin (R_f 0,12 NS). Als Copigmente sind zwei Flavonol-3-glycoside, Chlorogensäure und ein weiteres, im UV blau fluorescierendes Fluorochrom (R_f 0,56 NS) zugegen.

Mirabilis jalapa (rot- und gelbblühende Farbrassen): Der rote Blütenfarbstoff wurde mit Hilfe der präparativen Papierbogenmethode isoliert; vom Extinktionsspektrum findet sich in Abb. 5 eine Wieder-

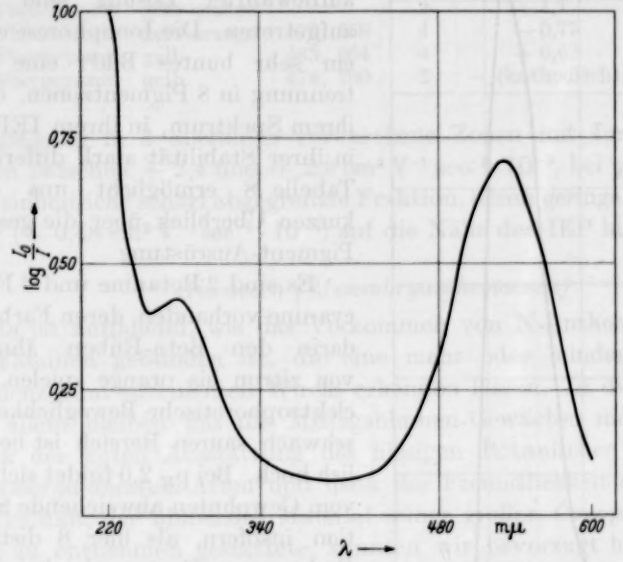

Abb. 5. *Mirabilis jalapa*, Extinktionsspektrum des roten Blütenfarbstoffes, λ_{max} 530 mμ, 270 mμ, in Phosphatpuffer p_H 6,64

gabe, die die weitgehende Übereinstimmung mit dem Spektrum der normalen Anthocyane, besonders dem der Cyanidin-Glycoside erkennen läßt. Die spektroskopischen Daten plädieren geradezu für enge strukturelle Beziehungen der Betanine zu den Anthocyaninen. Tabelle 7 gibt schließlich einen Eindruck von dem sehr ähnlichen Verhalten der roten und gelben *Mirabilis*-Pigmente während der Elektrophorese.

Phytolaccaceen

Im ersten Teil der Centrospermen-Untersuchungen (1955) war auf die wichtige Stellung hingewiesen worden, die viele Taxonomen dieser zwischen den Cactaceen und den „klassischen" Centrospermen-Gruppen vermittelnden Familie einräumen. Auch die Pigmentierung ließ derartige Zusammenhänge erkennen.

Phytolacca decandra: Der rotviolette Kermesbeerensaft als Acetat-Puffer-Extrakt gewonnen, zeigte im Pherogramm (s. Tabelle 7) 3 Betaninzonen.

Rivinia aurantiaca. Die Beeren, über deren Pigmentausstattung wir bereits 1955 berichtet haben, wurden in Acetatpuffer homogenisiert. Nach Abnutschen und Zentrifugieren der Rückstände wurde der Extrakt entweder sogleich der Elektrophorese unterworfen oder bei + 1° C zur weiteren Verwendung aufbewahrt. Unterschiede in den Resultaten aus der Ionophorese von Frischextrakt oder von einer Woche lang aufbewahrter Lösung sind nicht aufgetreten. Die Ionophorese ergibt ein sehr buntes Bild: eine Auftrennung in 8 Pigmentzonen, die in ihrem Spektrum, in ihrem IEP und in ihrer Stabilität stark differieren. Tabelle 8 ermöglicht uns einen kurzen Überblick über die gesamte Pigment-Ausrüstung.

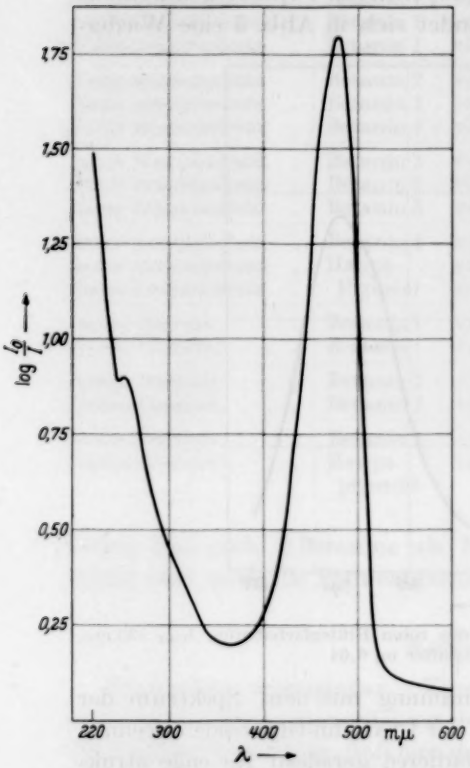

Abb. 6. *Rivinia aurantiaca*, Extinktionsspektrum eines Flavocyanins (Pigment Nr. 3), λ_{max} 477 mμ, 263 mμ. in Phosphatpuffer p_H 6,64

Es sind 2 Betanine und 6 Flavocyanine vorhanden, deren Farbtöne, darin den Beta-Rüben ähnelnd, von zitron bis orange spielen. Die elektrophoretische Beweglichkeit im schwach sauren Bereich ist beachtlich hoch. Bei p_H 2,0 findet sich eine vom Gewohnten abweichende Situation insofern, als hier 8 distinkte Farbzonen auftreten, also keine einheitliche Wanderungsfraktion ausgebildet ist wie etwa bei *Aerua* oder *Iresine*. Auch fällt besonders auf, daß die Flavocyanine sich in ihrem Wanderungssinn uneinheitlich verhalten. Vier der Pigmente (Nr. 3 und 6 vornehmlich) wandern kathodisch, was auf einen IEP oberhalb 2 hinweist. Die restlichen streben gleich den Betaninen zur Anode, haben also ihren IEP zwischen p_H 1 und 2. In Abb. 6 findet sich die Wiedergabe eines typischen Extinktionsspektrums, das die Flavocyanin-Natur der gelben Pigmente erweist.

Trichostigma peruvianum. Angesichts der großen Mannigfaltigkeit an Farbstoffen bei *Rivinia aurantiaca* mutet die Pigmentierung der unterseitigen Blattepidermis von *Trichostigma* geradezu einförmig an. Bei p_H 6,64 bewegt sich das rotviolette Pigment als einheitliche Fraktion. (Ionenmobil.: + 3,4 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$.) Bei p_H 4,6 fanden wir eine

Tabelle 8. *Die Farbstoffe von Rivinia aurantiaca*

Nr.	Pigment	Farbe	λ_{max} mμ	Relat. Konz.	Ionenmobilität bei pH 2,0 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$	Ionenmobilität bei pH 6,64 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$
1	Flavocyanin	gelb	474, 258	1	— (kathodisch)	+4,3
2	Betanin	violett	540, 264	1	+0,84	+5,4
3	Flavocyanin	gelb	479, 263	4	−1,1	+6,3
4	Betanin	violett	543, —	4	+2,2	+7,8
5	Flavocyanin	gelb-orange		2	+1,1	+8,4
6	Flavocyanin	gelb-orange	473, 258	4	−0,77	+9,1
7	Flavocyanin	gelb	483, 264	4	+0,62	+9,1
8	Flavocyanin	gelb	474, 260	2	— (kathodisch)	+11,3

Aufspaltung in 3 allerdings verwaschene Zonen mit Ionenbeweglichkeiten zwischen + 2,4 und + 2,9 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$, bei p_H 2,0 wieder eine einheitliche scharf abgegrenzte Fraktion, deren geringe Ortsveränderung (+ 0,48 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$) auf die Nähe des IEP hindeutet.

Aizoaceen (Mesembryanthemaceen)

Es ist auffallend, wie das Vorkommen von N-Anthocyanen häufig an Familien gebunden ist, die eine mehr oder minder ausgeprägte Tendenz zum succulenten Wuchs erkennen lassen. In dieser Hinsicht vor allem bleiben uns die Mittagsblumen-Gewächse nichts schuldig. Dank der guten Ausstattung des hiesigen Botanischen Gartens mit *Mesembryanthemum*-Arten und dank der Freundlichkeit des Herrn Dr. A. Tischer, der blühendes Material seiner großen *Conophytum*-Sammlung zu entnehmen gestattete, konnten wir bevorzugt hochsucculente Formen auf ihre Blütenfarbstoffe hin untersuchen. Die Analyse gestaltete sich z. T. recht schwierig, da von den sehr zarten Petalen häufig nur geringe Mengen zur Verfügung standen. Besonders gilt dies für die *Conophytum*-Arten, die den Inhalt der Tabelle 9 und 10 ausmachen.

Bei *Conophytum* interessierte uns, ob für die auf morphologischen, ökologischen und pflanzengeographischen Gesichtspunkten basierende Gliederung, wie sie Tischer (1952) vorgenommen hat, auch pigmentchemische Argumente herangezogen werden könnten. Aus diesem Grunde ist das analysierte Material in der Reihenfolge der neueren systematischen Gruppierung (Untergattung *Derenbergia*, Reihen: *Biloba*, *Ovigera*; Untergattung *Euconophytum* mit den Reihen: *Wettsteinia*, *Minuscula*, *Carruicola*, *Cataphracta*) angeführt. Was nun die farbbestimmenden Hauptpigmente der Petalen anlangt, so ist den Tabellen zu entnehmen, daß die gelben Blüten durchwegs ihre Farbe einem Flavocyanin verdanken, dem gleichen Pigment, das im 1. Teil (1955) für *Pleiospilos* und *Glottiphyllum* angegeben worden war. Dies ist der gelbe Mesembryanthemaceen-Farbstoff schlechthin, wie auch die Tabelle 11 erweist. Man könnte ihn mit dem Terminus „Mesembryan-

themin' belegen. Nähere Angaben über die spektroskopischen und elektrophoretischen Eigenschaften folgen bei der Besprechung der Gattung *Glottiphyllum* (S. 424, s. auch Abb. 7). Die violetten Blüten verdanken ihre Farbe in der Regel einem violetten Betanin mit dem R_f-Wert 0,15—0,17 NS, das bei p_H 4,6 mit einer elektrophoretischen Beweglichkeit von + 4,5 $cm^2 sec^{-1} V^{-1} \cdot 10^{-5}$ zur Anode wandert. Dieses Betanin ist anscheinend den *Conophyten* in hohem Maße als Kardinalpigment eigentümlich, jedoch gibt es auch vereinzelte Vorkommen bei anderen violett blühenden Mesembryanthemaceen-Gattungen (z. B. *Malephora*, *Dorotheanthus*).

Bei einigen *Conophytum*-Arten, deren Blütenfarbe mehr eine Rotkomponente enthielt („rosa-lila"), trat auch ein wasserlöslicheres rotes Betanin auf (R_f 0,08, Ionenmobilität + 4,5 $cm^2 sec^{-1} V^{-1} \cdot 10$ bei p_H 4,6, vorwiegend als Begleiter des violetten Betanins, bei *Conophytum*

Tabelle 9

Derenbergia biloba	Blütenfarbe	Flavocyanin	Betanin	Flavonole 1	2	3	4
Conoph. elishae . . .	gelb	• 20		+++51	+++63	+56	
Conoph. bifidum . . .	gelb	• 19		+++51	++62		
Conoph. meyeri. . . .	gelb	• 19		+++50			
Conoph. simplum . .	gelb	• 19		+++49	+63	+56	
Conoph. citrinum . . .	gelb	• 20			+++65	+++57	+36
Conoph. plenum . . .	gelb	• 20			+++66	+57	
Conoph. albescens . . .	gelb	• 21		+++52	+66		
Conoph. impolitum	gelb	• 19		+52	+++67		+38
Conoph. laetum . . .	gelb	• 19		++53	+++66		+38
Conoph. corculum . .	gelb	• 19			+++69	++59	+41
Conoph. conradi . . .	gelb	• 20		+50	++67	+++58	
Conoph. augustum . .	gelb	• 18		+51	**+++**66	+++58	+36
Conoph. subacutum . .	gelb	• 19		+++51	+++66		+38
Conoph. nelianum . .	gelb	• 18		+++49	++66	+++57	+36
Conoph. exsertum . .	gelb	• 20		++52	+++67		
Conoph. marginatum .	lila		• 17	+++52	+69		+38
Conoph. taylorianum .	lila		• 16	+++53			+38
Conoph. ernianum . .	mattlila		• 16	+++53	+68		+40
Derenbergia ovigera . .							
Conoph. tischeri . . .	lila		• 15	+++50		+57	
Conoph. marnierianum	orangerot!	• 21	• 17	+++52	+70		

Erläuterungen. +++ = Hauptflavonol, ++ = Begleitpigment, + = nur in Spuren nachweisbar, Flavonol 1 = Kaempferol-glycosid, höchstwahrscheinlich Kae-3-rhamnoglucos.; Flavonol 2 = Kaempferol-glycosid, höchstwahrscheinlich Kae-3-glucosid; Flavonol 3 = Kaempferol-glycosid; Flavonol 4 = Kaempferol-glycosid; Flavonol 5 = noch zusätzlich aufgetretenes Flavonol = Kae-glycosid, noch ein weiteres Flavonol-glycosid mit dem R_f-Wert 0,29 NS, • coloristisch maßgebendes Hauptpigment. Die Zahlen bedeuten: R_f-Werte · 100.

maximum jedoch als Kardinal-Farbstoff. Dieses Betanin entspricht dem Hauptfarbstoff zahlreicher anderer Mesembryanthemen-Gattungen (s. Tabelle 11 bei *Gibbaeum*, *Trichodiadema*).

Die Blütenfärbungen besitzen alternativen Charakter: entweder violett oder gelb. Orangerote Petalen, die auf der Mischung eines Betanins mit dem gelben Pigment beruhen, sind auf wenige Fälle beschränkt (*C. marnierianum*, s. TISCHER und JACOBSEN 1956).

Wenden wir schließlich den Copigmenten, den Flavonolen, unsere Aufmerksamkeit zu: Die Gattung *Conophytum* ist durch eine ganze Reihe von Flavonol-glycosiden ausgezeichnet, die bei Hydrolyse Kaempferol als Aglucon ergeben. Nur in Spuren tritt in manchen Species noch Quercetin im Hydrolysat auf, doch gelang dabei die Zuordnung zu einem Stoff der Glycosidfraktion nicht.

Tabelle 10

Euconophytum Wettsteinia	Blütenfarbe	Flavocyanin	Betanine		Flavonole				
			1	2	1	2	3	4	5
C. tetracarpum	gelb	• 21				+++68	++54	+40	
C. luteum . .	gelb	• 20	+17		+++50				
C. ornatum .	gelb	• 19		+8	+50	+++70	++59		+29
C. luteolum. .	gelb	• 21			+++52	+69		+40	
C. flavum . .	gelb	• 19			+++53				
C. pearsonii .	lila		• 16		+52			+39	+++28
C. minutum .	lila		• 17		+++53	+70	+59	+38	
C. sellatum . .	lila		• 16	+10	+++52				
C. wettsteinii .	lila		• 18	+11		+70		+39	29
C. tubatum .	lila		• 16					+40	30
C. praegratum	lila		• 15			+71	++58	+37	+++28
C. maximum .	rosa-lila	+ 20		• 8	+50	++72	+++60		
Euconophytum Minuscula									
C. turrigerum	lila		• 16	+8	+49	+69	+++59		
C. limbatum .	lila		• 15		+++51		++59	+38	+29
C. ectypum .	gelb	• 20				+72		+37	+++27
Euconophytum Carruicola									
C. piluliforme	rot		• 15		+++52			+37	
Euconophytum Cataphracta									
C. globuliforme	gelb	• 21			+++51	+69		+40	

Erläuterungen. • Coloristisch maßgebend, + nur in Spuren nachweisbar, ++ Begleitpigmente, +++ Hauptflavonol. Die Zahlen bedeuten: $R_f \cdot 100$. Flavonol 1 = Kaempferol-glycosid, höchstwahrscheinlich Kae-3-rhamnosid; Flavonol 2 = Kaempferol-glycosid, höchstwahrscheinlich Kae-3-glucosid; Flavonol 3 = Kaempferol-glycosid; Flavonol 4 = Kaempferol-glycosid; Flavonol 5 = Kaempferol-glycosid.

Arten mit gelben Blüten (Tabelle 11)

Glottiphyllum. Die alljährlich im Herbst und Frühwinter in unseren Gewächshäusern heranwachsenden großen gelben Strahlenblüten sind für uns deshalb von einigem Interesse, weil *ein* Flavocyanin (eben das „Mesembryanthemin") die gesamte Petalenfärbung übernimmt. Es sind keine anderen begleitenden Pigmente da, auch keine Flavonole. Abwesenheit von Flavonolen und Flavonen in Petalen ist bei den gesamten Angiospermen ein recht seltenes Vorkommnis, wie neuere Analysen wieder gezeigt haben (SEYBOLD 1954, REZNIK 1956, ROLLER 1956). Durch den eben erwähnten Umstand ist auch die Isolierung des Pigmentes sehr erleichtert. Das gelbe Flavocyanin, das als identisch mit dem gelben Pigment aus *Faucaria-*, *Pleiospilos-*, *Lithops-*, *Conophytum-* und *Lampranthus*-Blüten anzusehen ist, wandert bei p_H 4,6 rasch zur Anode (+ 7,7 $cm^2 V^{-1} sec^{-1} \cdot 10^{-5}$). Die Lage der Absorptionsmaxima (λ_{max} 478 bis 480 mμ; λ_{max} 282 mμ) sowie der Verlauf der spektralen Extinktionskurve dokumentieren ein typisches Flavocyanin (Abb. 7 und 8, zum Vergleich siehe Abb. 6: *Rivinia* und Abb. 4: *B*).

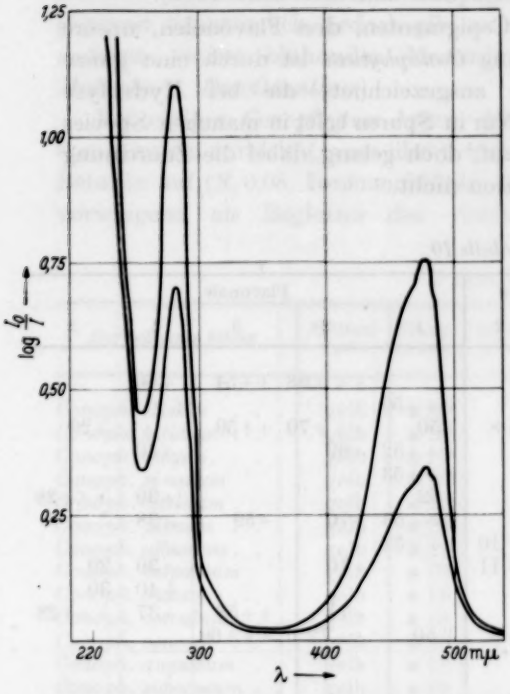

Abb. 7. *Glottiphyllum nelii*, Extinktionsspektrum des Flavocyanins (2 verschiedene Eluate), λ_{max} 480 mμ, 283 mμ, in Methanol

Für *Rabiaea lesliei* und *Bergeranthus multiceps*, sowie für einige *Pleiospilos-* und *Faucaria*-Arten gilt Punkt für Punkt das eben bei *Glottiphyllum* Gesagte. Andere gelbblühende Gattungen und Species bilden in ihrem Zellsaft noch farbintensivierende Copigmente aus, von denen die meisten den Flavonol-3-glycosiden, vornehmlich Kaempferol- und Quercetin-glycosiden zuzuordnen sind. Blaue UV-Fluorochrome scheinen weniger aufzutreten.

Orangegelbe Blüten, wie sie die Untergattung *Xantholithops* (z. B. *Lithops kuibisenis*) charakterisieren, erhalten ihre Farbnuance durch eine Beimischung von 2 Betaninen zum coloristisch maßgebenden gelben Pigment.

Arten mit violetten Blüten

Tabelle 11 belehrt uns, daß die roten und violetten Betanine, die bei *Conophytum* für die Farbtönungen verantwortlich waren, auch hier wieder auftreten. Auffällig ist dabei das gehäufte Vorkommen von Chlorogensäure: Den gelbblühenden Arten fehlte dieses Depsid zumeist. Das violette Betanin (R_f 0,15 NS) verhielt sich während der Ionophorese bei p_H 4,6 wie ein Anion ($\alpha + 4{,}5\ cm^2\ V^{-1}\ sec^{-1} \cdot 10^{-5}$).

Über die Pigment-Garnitur des in den Rang einer Subfamilie oder Familie erhobenen ehemaligen Kollektiv-Genus *Mesembryanthemum* läßt sich zusammenfassend mitteilen, daß die recht große Vielfalt an Blütenfarb-Nuancen im Grunde auf der Mischung von 2 Betaninen mit einem Flavocyanin basiert. Andere Pigmente sind, wenn überhaupt, höchstens von farbintensivierendem Einfluß. So betrachtet beruht die Farbenpracht der Mittagsblumen lediglich auf der Modulation weniger (zudem noch sehr nahe verwandter) Pigmente. Für eine so weitgehende Aufspaltung der Sammelgattung *Mesembryanthemum*, wie sie heute sich bei den Taxonomen durchgesetzt hat (115 Gattungen), vermag die Pigmentanalyse keine ins Gewicht fallende Beiträge zu liefern, falls man nicht etwa das Fehlen von Copigmenten bei *Glottiphyllum* oder ähnliches als Gesichtspunkte gelten lassen will. Erwähnenswert in diesem Zusammenhang ist möglicherweise das Vorwiegen des weniger wasserlöslichen violetten Betanins in der Gattung *Conophytum*, während die anderen Genera mehr zur Ausbildung des rotstichigen Betanins tendieren. Eine abschließende Aussage wird freilich erst möglich sein, wenn mehr Objekte untersucht worden sind.

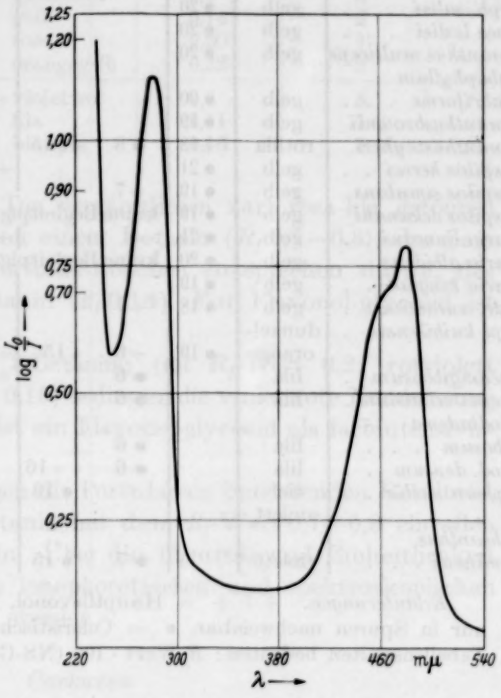

Abb. 8. Spektrale Extinktionskurve eines Flavocyanins aus den Petalen von *Pleiospilos dekenahi*, λ_{max} 478 mμ, 282 mμ, in Methanol

Die Resultate leiten uns zu der Auffassung hin, daß bei den Mesembryanthemaceen die biochemische Differenzierung im floralen Bereich

Tabelle 11

Name	Blütenfarbe	Flavocyanin	Betanine		Flavonole				Blaue Fluorochrome
			rot	violett	1	2	3	4	
Glottiphyllum erectum	gelb	• 20							
Glottiph. difforme . .	gelb	• 18							
Glottiph. nelii	gelb	• 19	keine Begleitpigmente						
Glottiph. salmi . . .	gelb	• 20							
Rabiaea lesliei . . .	gelb	• 20							
Bergeranthus multiceps	gelb	• 20							
Rhombophyllum dolabriforme . . .	gelb	• 20			+++51				
Lampranthusbrownii	gelb	• 19							63
Lampranthuszeyheri	rotlila	+18	• 8	+15				++36	64
Pleiospilos herrei . .	gelb	• 21			+49	++69	+++57	+39	
Pleiospilos simulans	gelb	• 19	+7						
Pleiospilos dekanahi	gelb	• 19	keine Begleitpigmente						
Faucaria duncani . .	gelb	• 21			++51	+++66			
Faucaria albidens . .	gelb	• 20	keine Begleitpigmente						
Faucaria kingiae . .	gelb	• 19							
Fenestr. aurantiaca .	gelb	• 18	+7				+++59		69
Lithops kuibisensis .	dunkelorange	• 19	+6	+15	+49	+++69			
Gibbaeumgibbosum .	lila		• 6		+52	+66		+++37	37
Gibbaeum velutinum .	lila		• 6						
Trichodiadema bulbosum	lila		• 6						62
Trichod. densum . .	lila		• 6	++16					64
Malephora mollis . .	tiefviolett			• 16	++15				65
Dorotheanthus gramineus	violett		• 7	• 15					65

Erläuterungen. +++ = Hauptflavonol, ++ = Begleitpigmente, + = nur in Spuren nachweisbar, • = Coloristisch maßgebend. Die Zahlen in den Tabellenspalten bedeuten: R_f-Wert · 100 (NS-Gemisch).

verhältnismäßig bescheidene Ausmaße angenommen hat. Als Paradigma für stark divergierende Tendenzen hinsichtlich der Ausbildung des Pigmentapparates mögen die Compositen dienen, wo einerseits gelbe Farbtöne entweder von Carotinoiden oder von Chalconen oder von Auronen (Benzalcumaranonen) hervorgebracht werden können, andererseits bei roten Farbtönen Carotinoide oder Anthocyane farbgebend sind.

Portulacaceen

Portulaca grandiflora. Die großblütigen und bunten Portulak-Röschen sind ein geglücktes Produkt gärtnerischer Züchtungskunst. Für unsere Untersuchung standen uns 3 Farbrassen zur Verfügung, deren Pigmentierung durch 2 Flavocyanine und 4 Betanine bestimmt wird (Tabelle 12).

Tabelle 12. *Die Farbstoffe einiger Varietäten von Portulaca grandiflora*

Blütenfarbe	Farbstoff	Farbe	R_f NS	Relative Konzentration
orangegelb	Flavocyanin	gelb	0,15	5
	Betanin	rosa	0,20	1
	Flavocyanin	orangegelb	0,22	5
rot	Betanin	violettrot	0,9	5
	Flavocyanin	gelb	0,14	2
	Betanin	rosa	0,20	1
	Flavocyanin	orangegelb	0,22	2
lilarot	Betanin	violettrot	0,8	5
	Betanin	lila	0,11	1
	Betanin	blaulila	0,16	5

Anacampseros rufescens. Die vergänglichen zart rosa-lila getönten Petalen haben ihre Farbe von einem Betanin (R_f 0,7—0,8), das dem roten Hauptpigment der Portulak-Röschen entsprechen dürfte, des weiteren von einem lila Betanin (R_f 0,14). Ein Flavonol-glycosid ist ebenfalls nachweisbar.

Calandrinia grandiflora. 3 Betanine (rot R_f-Wert 0,2, rotviolett R_f-Wert 0,7, violett R_f-Wert 0,15) bedingen die violettrote Nuancierung der Blütenfarbe. Auch hier ist ein Flavonol-glycosid als farbintensivierendes Copigment beteiligt.

Überblickt man die wenigen die Portulaceen betreffenden Resultate, so scheint vor allem das Betanin mit dem R_f-Wert 0,7—0,9 ein allen gemeinsames Merkmal zu sein. Über die Identität und Einheitlichkeit der Stoffe müßte freilich in ionophoretischen und spektroskopischen Untersuchungen entschieden werden.

Cactaceen

Die Cactaceen, durch neuere Forschungen als echte Centrospermen erkannt, besitzen nach bisherigen Befunden nur Stickstoff-Anthocyane vom Betanin- und Flavocyanin-Typ. Im ersten Teil vorliegender Untersuchung (1955) waren nur einige Stichproben genannt worden. Im folgenden geben wir eine ausführliche Liste mit 30 verschiedenen Species aus 14 Gattungen, sämtliche besitzen als coloristisch gravierende Farbstoffe Betanine und Flavocyanine. „Echte" Anthocyane sind hingegen nicht vorhanden (s. Tabelle 13).

Mammillaria. Für den Farbton in violetten Petalen sind ausschließlich Betanine maßgebend, bevorzugt ein stark wasserlösliches Pigment, das im Chromatogramm nur sehr langsam wandert (R_f 0,05—0,07). Ihm werden wir auch bei den übrigen Cactaceen-Gattungen wiederbegegnen. Auch Copigmente fehlen nicht, sie sind sogar in erheblicher Konzentration vorhanden, vor allem Quercetin-3-glycoside. Da sich das

Tabelle 13

Name	Blütenfarbe	N-Anthocyane				Flavonole		Zahl der Nebenflavonole
		1	2	3	4	5	6	
Mammill. zeilmanniana	violettrot	● 5				+++45	+57	
Mammill. setigera . . .	rotviolett	● 5						
Mammill. woodsii . . .	violett	● 7	● 9	● 14		+++50		
Mammill. rhodantha . .	violettrot	● 5						
Mammill. succulosa . .	violettrot	● 6				+++49		
Mammill. pusilla . . .	rot	● 5			● 15			
Neoporteria ebenacantha .	rot		● 11	● 16	+24	+++46	+55	2
Melocactus peruvianus .	rot	● 6						
Aylostera pseudodendron.	orangerot		● 9	● 13		+48	+++58	1
Rebutia krainziana . . .	scharlachrot	● 6	● 11	● 16	+20	+++47	+59	
Rebutia senilis	orangerot	● 7	● 12	● 17	+21	+++49	+59	
Rebutia kesselringiana .	orangegelb					+++48	++60	1
Rebutia marsoneri . . .	gelb	● 6			+19	+++49		
Rebutia minuscula . . .	rot	● 5			+19	+++48	+60	
Parodia mutabilis . . .	rot				● 18*	++54	++59	2
Parodia chrysacanthon .	gelb					50	++59	1
Parodia sanguiniflora . .	blutrot	● 4			+19*	54	+60	2
Lobivia famatigensis . .	orangerot	● 5			+19	+++51		1
Lobivia chlorogona . . .	rot	● 6	● 12		*	+++50		
Cleistocereus jujuyensis .	Rückenkiel lilarot	● 5			+19	+++49		
Notocactus ottonis . . .	creme	+4	+10	+17		+48	● ++60	
Notocactus scopa	zitron					++49	● 58	2
Notocactus mammulosus .	zitron			+21		+++48	● 57	1
Gymnocalycium andraeae	dunkelrot-rotviolett	● 6		+14		+++52		1
Gymnocalyciumbaldianum	rot	● 6				+++48		
Ariocarpus kotschubeyanus	rotviolett	● 5	● 12			+++52		1
Chamaecereus silvestris .	rot	● 6			+22	+++50	++61	1
Opuntia azurea	creme-orange				+20	++52		1
Opuntia soerensii	lila Früchte	● 5						
Zygocactus truncatus . .	lila	● 5						

Erläuterungen. N-Anthocyan 1 = Betanin, N-Anthocyan 2 = Betanin, N-Anthocyan 3 = Betanin, N-Anthocyan 4 = Flavocyanin, Flavonol 5 = Flavonol, Flavonol 6 = Flavonol, +++ = Hauptflavonol, ++ = Begleitpigmente, + = nur in Spuren nachweisbar, ● = koloristisch maßgebend, * = zusätzliches Auftreten eines weiteren Flavocyanins. Die in der Tabelle aufgeführten Zahlen bedeuten: $R_f \cdot 100$ (Nordström-Swain-Gemisch).

Hauptflavonol in allen seinen Eigenschaften wie Rutin verhält, dürfte es sich hier um dieses Glycosid handeln.

Rotblühende Mammillarien haben als farbbestimmende Komponente zu den bereits oben erwähnten ein Flavocyanin.

Rebutia. Hier kamen vor allem scharlachrote, orangegelbe und gelbe Petalen zur Untersuchung. Die rotgetönten Blüten sind wie die gleichfarbigen Mammillarien pigmentiert, zwei rascher wandernde Betanine (R_f 0,12, 0,17) sind hervorzuheben. Was die gelbblühenden

Formen anlangt, so besitzen sie ein Flavocyanin, das dem bei *Mammillaria* beschriebenen gelben Pigment entspricht. Dieses Pigment ist auch bei den in der Tabelle 13 nachfolgenden Gattungen immer dann anzutreffen, wenn intensiv gelbe oder rote Blütenfarben vorhanden sind. Als Copigment, das hier bei der Pigmentierung von nicht unerheblichem Einfluß ist, findet sich wieder ein Quercetin-3-glycosid, das wir für Rutin halten, da es sich wie authentisches Rutin verhält.

Parodia, *Lobivia*, *Cleistocereus*, *Gymnocalycium*, *Chamaecereus*. Wir wollen uns eine ausführliche Besprechung der tabellierten Angaben ersparen und uns mit dem Hinweis begnügen, daß der Pigmentapparat

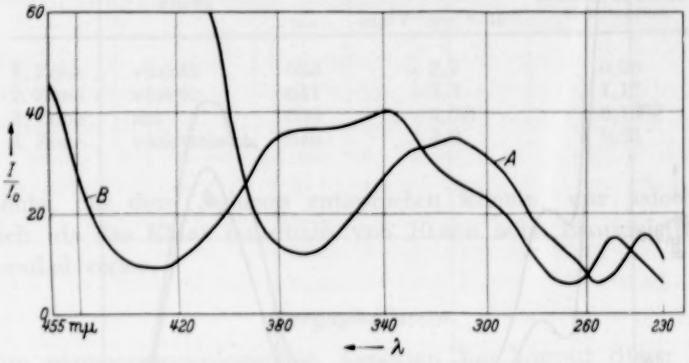

Abb. 9. Transmissionsspektrum eines Quercetin-7-glycosids aus der Blüte von *Notocactus scopa*. *A* In Methanol, λ_{max} 372 mμ, 256 mμ. *B* Aluminium-Chelat in Methanol, λ_{max} 428 mμ, 270 mμ

auch hier ein Gemisch jener Komponenten darstellt, die wir bei *Mammillaria* und *Rebutia* besprochen haben. Wir gelangen bei der Betrachtung der Tabellenwerte leicht zu dem Schluß, daß die Pigmentierung der großen Familie der Cactaceen anscheinend einen recht uniformen Charakter besitzt. Drei Betanine und ein Flavocyanin, sowie ein Quercetin-glycosid kehren bei allen Gattungen wieder, wobei die Mischung sich auf wenige Kombinationen beschränkt. Betrachten wir schließlich das maßgebende Betanin 1, so finden wir hier einen die Cactaceen kennzeichnenden Farbstoff. Von ihm war bereits im 1. Teil (1955) die Rede.

Notocactus. Abweichende Verhältnisse prägen sich in der Gattung *Notocactus* insofern aus, als hier die N-Anthocyane nur in Spuren nachzuweisen sind, die für das Koloristische ohne Belang bleiben. Färberisch wirksam sind allein die Quercetin-glycoside, vorzüglich ein im UV bei 366 mμ gelbfluorescierendes Glycosid (R_f 0,58), das sich infolge seiner abweichenden Fluorescenz wie ein Quercetin-7-glycosid verhält.

Eine typische spektrale Transmissionskurve des Quercetin-7-glycosids, das in besonders hoher Konzentration (~ 2%, bezogen auf das TG) in den Blüten von *Notocactus scopa* gebildet wird, ist in Abb. 9 wiedergegeben.

Tabelle 14

	Aluminium-Chelat			
	λ_{max_1} mμ	λ_{max_2} mμ	λ_{max_1} mμ	λ_{max_2} mμ
Quercimeritrin (Quercetin-7-glucosid) . . .	374	257		
Quercetin-7-glycosid aus Notocactus scopa .	372	256	427	269

Opuntia soerensii. Hier standen nicht Blüten zur Verfügung, sondern von getrocknetem Fruchtfleisch umhüllte Samen, die bei den Peruanern

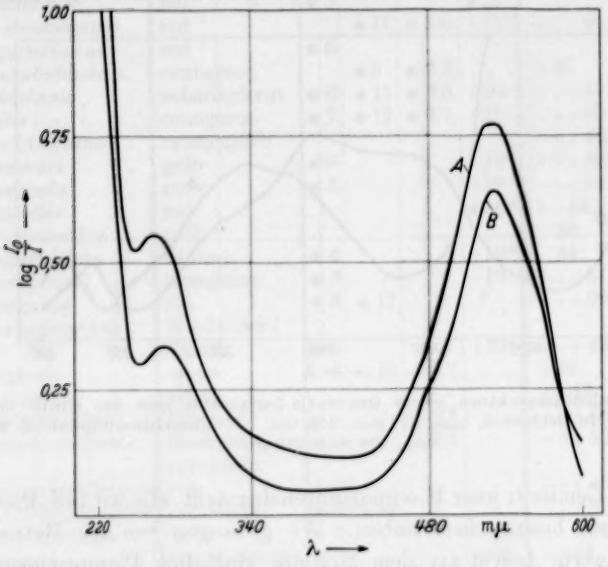

Abb. 10. Extinktionsspektren von roten Kakteenpigmenten. *A Parodia sanguiniflora*, λ_{max} 532 mμ, 265 mμ. *B Opuntia soerensii*, λ_{max} 535 mμ, 270 mμ

und anderen andinen Völkern als „Airampu" im Handel sind und zum Färben von Lebensmitteln, z. B. Gelee oder Pudding verwendet werden. Das Airampu, von dem Herr Prof. RAUH (Heidelberg) mir liebenswürdigerweise eine Probe beschafft hat, löst sich sofort in kaltem Wasser mit tiefvioletter Farbe. Das Papierchromatogramm ergab einen einheitlich wandernden „spot". Bei Anwendung der im methodischen Abschnitt geschilderten Enzymhydrolyse trat nach 16 Std Inkubation bei 40° C ein blauvioletter Fleck vom R_f-Wert 0,08—0,09 (NS) auf, der ein Aglucon sein dürfte. Glycosid wie Aglucon, der Niederspannungsionophorese bei p_H 4,6 unterworfen, wanderten mit gleicher Geschwindigkeit zur Anode. Hieraus schließen wir, daß unter dem Einfluß des hydrolysierenden Enzyms keine Abspaltung der die ionophoretische Beweglichkeit bedingenden Carboxyle eingetreten ist.

Im gewissen Gegensatz zu den Resultaten der Niederspannungsionophorese stehen diejenigen der Hochspannungs-Ionophorese. Hier trennte sich der Betanin-Extrakt in 4 Zonen auf (p_H 4,6, 1500 V): Tabelle 14.

Im Enzym-Hydrolysat trat außer den 4 eben erwähnten Zonen noch eine langsam wandernde Zone von blauvioletter Farbe auf ($+ 2{,}2$ cm^2 V^{-1} sec^{-1} · 10^{-5}). Eine spektroskopische Analyse dieses

Tabelle 15

	Farbe	λ_{max} mμ	Ionenmobilität cm^2 V^{-1}sec^{-1} · 10^{-5}	Relative Konzentration, in Extinktionswerten
1. Zone .	violett	536	+2,7	0,96
2. Zone .	violett	541	+3,3	1,17
3. Zone .	rot	539	+4,06	0,15
4. Zone .	violettrosa	540	+4,6	0,21

Pigments, das dem Aglucon entsprechen könnte, war jedoch nicht möglich, da das Eluat innerhalb von 10 sec seine blauviolette Farbe irreversibel verlor.

Caryophyllaceen

Von pigmentphysiologischen Aspekten her kommt dieser Familie insofern die Rolle eines „Außenseiters" zu, als keine Betanine und Flavocyanine nachweisbar sind, sondern ausschließlich normale Anthocyane (Teil I, 1955). Eine Reihe von Arten der Gattungen *Dianthus*, *Lychnis*, *Melandrium*, *Silene* und *Viscaria* wurde untersucht. Die Petalen enthielten in ihren Vacuolen Glycoside des Cyanidins, Pelargonidins und Malvidins; als Flavonole wurden Quercetin-3-glycoside und Kaempferol-3-glycoside gefunden. Bei einigen gelben Remontant-Nelken von *Dianthus caryophyllus* traten Kaempferol-3-glycoside als die Farbe bestimmende Pigmente auf.

Erwähnt sei, daß Geissman, Hinreiner und Jorgensen bei ihren biochemisch-genetischen Studien über die Pigmentation von *Dianthus caryophyllus* Glycoside des Cyanidins und Pelargonidins nachweisen konnten. Diese Verbindungen waren von ihren strukturhomologen Flavonolen (Quercetin, Kaempferol) begleitet.

Da die Untersuchungen noch auf andere Vertreter der *Silenoideae* ausgedehnt werden sollen, zudem auch die wenigen bunt gefärbten Arten der *Paronychioideae* und *Alsinoideae* einer Analyse zu unterziehen sind, wollen wir es bei diesen kurzen Angaben belassen. Eine ausführliche Erörterung der Pigmentverhältnisse der Caryophyllaceen ist vorgesehen.

V. Diskussion

Im ersten Teil der vorliegenden Untersuchungsserie (1955) war nachdrücklich auf die pigmentphysiologische Sonderstellung der Centrospermen hingewiesen worden. Die Feststellung: „Bei den Centrospermen fehlt die Fähigkeit zur Bildung normaler Anthocyane; es werden ausschließlich betanin-artige Pigmente (rote und gelbe N-Anthocyane) gebildet" klingt gewiß apodiktisch. Jedoch bleibt auch nach Auswertung der im zweiten Teil dargestellten Fakta nichts anderes übrig, als diese Feststellung zu wiederholen: Bisher ist uns noch kein Fall bekannt geworden, der hierin eine Ausnahme macht. Daß und wie die Caryophyllaceen sich en bloc anders verhalten, ist im 1. Teil ausführlich erörtert worden.

Die N-Anthocyane der Centrospermen wandern im elektrischen Feld sämtlich nach dem Modus, den SCHMIDT und SCHÖNLEBEN (1956), sowie LINDSTEDT (1956) beschrieben haben. In schwach sauren Puffergemischen kann die ionophoretische Beweglichkeit recht hohe Werte erreichen (bis zu $+ 11{,}3\ cm^2\ V^{-1}\ sec^{-1} \cdot 10^{-5}$). Um ein Geringfügiges verschieden kann bei den einzelnen Pigmenten der IEP sein, er dürfte aber wohl immer in der Nähe von p_H 2,0 liegen.

Die ionophoretischen Untersuchungen in den einzelnen Familien der Centrospermen ließen deutlich werden, daß es Dutzende von Betaninen und Flavocyaninen geben muß. Besonders einprägsame Beispiele stellten die Formen mit komplizierter Mischpigmentierung dar: *Beta, Rivinia, Opuntia* u. a. Es tritt uns eine Mannigfaltigkeit an Farbstoffen entgegen, die sich mit der Mannigfaltigkeit der floralen Anthocyane bei den übrigen Angiospermen durchaus vergleichen läßt, wo 3- und 3,5-Glycoside des Pelargonidins, Cyanidins, Delphinidins, Malvidins, Paeonidins und Petunidins gebildet werden.

Der Mannigfaltigkeit im floralen Bereich steht bei den übrigen Angiospermen die Uniformität der chymochromen Laubblatt-Pigmentierung gegenüber (REZNIK 1956, dort weitere Literatur). In den vegetativen Pflanzenteilen, vornehmlich den Laubblättern, spielt unter den verschiedensten „krisenhaften" Bedingungen das sich bildende Anthocyan die Rolle eines wichtigen Stoffwechsel-Symptoms („Aufbau-Krisen" → Jugendanthocyan, „Abbau-Krisen" → Herbstanthocyan, Verwundung → Wundanthocyan usw.), wenn wir die Verhältnisse bei den übrigen Phanerogamen zugrunde legen. Auch die Centrospermen zeigen hierin kein abweichendes Verhalten, nur treten dort eben N-Anthocyane als Krisen-Symptome auf! Da uns bekannt ist, daß als „vegetatives" Anthocyan der Phanerogamen bevorzugt ein Cyanidin-3-glycosid gebildet wird, müßte nach dem N-Anthocyan gesehen werden, das in dieser Rolle vikariiert. Was dies betrifft, so sind wir noch zu keinem klaren Resultat gekommen.

Die chemische Forschung hat noch keinen schlüssigen Beweis erbracht, ob den Betaninen und Flavocyaninen überhaupt eine Flavylium-(oder Flavan-)Struktur zukomme. Die bisher vorliegenden Daten jedoch sprechen sehr dafür. Auch die oben angestellten Erörterungen, die auf dem Vergleich der physiologischen Rolle der Anthocyane und der N-Anthocyane basieren, lassen sich als Hinweise für die engen strukturellen Beziehungen zwischen beiden Gruppen verwenden. Zudem fällt auf, daß die N-Anthocyane in den Vacuolen von Flavonol-3-glycosiden begleitet werden, deren Biogenese weitgehend mit der Biogenese der Anthocyane verknüpft ist: Auch dies deutet m. E. darauf hin, daß die N-Anthocyane gemeinsam mit den Flavonolen aus dem vermutlich von Zimtsäuren in der Hauptsache gebildeten Phenylpropan-„pool" sich ableiten.

Da die Anthocyane Indicatoren für sehr bestimmte zellphysiologische Bedingungen darstellen, von deren Kenntnis wir freilich noch recht weit entfernt sind, müßte gefragt werden, welche allgemeinen oder speziellen Zellbedingungen bei den Centrospermen von der Norm abweichen. Hierüber können selbstverständlich nur Spekulationen angestellt werden. Mir ist bei der Durchsicht der Literatur aufgefallen, daß das p_H des Zellsaftes bei den Centrospermen-Familien am weitesten zum Alkalischen hin tendiert. Da gerade die Zellsaftacidität weitgehend über die Akkumulation sekundärer Pflanzenstoffe im Zellkörper entscheidet, wäre es wichtig, diesen Punkt im Zusammenhang mit der Betanin-Bildung zu untersuchen. Ein anderer Punkt, der einer Klärung bedarf, handelt von dem möglicherweise abweichenden Stickstoff-Metabolismus der Centrospermen. Mehrere Autoren bringen ohnedies die Anthocyan- und Flavon-Bildung in einen Zusammenhang mit dem Eiweißabbau. Bei den Centrospermen hätten diese Beziehungen eine besondere Form angenommen, die zu enträtseln eine schöne Aufgabe wäre.

Auch inwieweit die Tendenz zum succulenten Wuchs, die ja die Centrospermen auszeichnet, mit der Betanin-Bildung verknüpft ist, müßte geprüft werden.

Über all diese mutmaßlichen Zusammenhänge hat eine stoffanalytisch orientierte Arbeit nichts zu berichten: Hier kann nur das physiologische Experiment weiterführen.

Zusammenfassung

1. Die centrospermen-spezifischen Stickstoff-Anthocyane (Betanine, Flavocyanine) der Chenopodiaceen, Amarantaceen, Nyctaginaceen, Phytolaccaceen, Aizoaceen, Portulacaceen und Cactaceen verhalten sich bei Ionophorese in verschiedenen Puffergemischen wie das Betanin der Roten Rübe.

2. Bei Anwendung der Hochspannungs-Ionophorese erfolgt häufig eine Auftrennung der Betaninfraktion in mehrere Komponenten, deren Charakteristika beschrieben werden. Ähnliches gilt für Flavocyaninfraktionen.

3. Es werden Listen über die Blütenpigmentierung von Cactaceen und Aizoaceen mitgeteilt und in taxonomischer Hinsicht gedeutet.

4. Die physiologische Rolle der N-Anthocyane wurde im Rahmen des allgemeinen Anthocyanstoffwechsels diskutiert.

5. Als Copigmente wurden Flavonolglycoside nachgewiesen. Bei den Cactaceen dominieren Quercetin-3-glycoside, bei den Aizoaceen Kaempferol-3-glycoside. Im Cactaceen-Genus *Notocactus* tritt ein Quercetin-7-glycosid auf.

Die vorliegende Untersuchung wurde durch Zuwendungen der Deutschen Forschungsgemeinschaft entscheidend gefördert. Herrn Prof. O. Schmidt (Heidelberg) bin ich für zahlreiche wertvolle Hinweise zu großem Dank verpflichtet.

Literatur

Aronoff, S., and E. M. Aronoff: Thermal degradation of dehydrated beets. II. Chromatographic separation of red beet-root pigments. Food Res. **13**, 59—65 (1948). — Bandlow, G.: Die Genetik der Beta vulgaris-Rüben. Züchter **25**, 104—122 (1955). — Geissman, T. A., E. H. Hinreiner and E. C. Jorgensen: Inheritance in the carnation, Dianthus caryophyllus. V. The chemistry of flower color variation. II. Genetics **41**, 93—97 (1956). — Lindstedt, G.: Electrophoresis of red beet pigments. Acta chem. scand. (Copenh.) **10**, 698—699 (1956). — Reznik, H.: Die Pigmente der Centrospermen als systematisches Element. Z. Bot. **43**, 499—530 (1955). — Untersuchungen über die physiologische Bedeutung der chymochromen Farbstoffe. Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss., Math.-naturwiss. Kl., 2. Abh. **1956**, 125—217. — Roller, K.: Über Flavonoide in weißen Blumenblättern. Z. Bot. **44**, 477—500 (1956). — Schmidt, O. Th., u. W. Schönleben: Zur Kenntnis des Farbstoffs der Roten Rübe. Naturwiss. **43**, 159 (1956). — Seybold, A.: Untersuchungen über den Farbwechsel von Blumenblättern, Früchten und Samenschalen. Sitzgsber. Heidelberg. Akad. Wiss., Math.-naturwiss. Kl., 2. Abb. **1954**. — Tischer, A.: The systematics of Conophytum. Cactus a. Succ. J. Great Brit. **14**, 8—9ff. (1952). — Tischer, A., et H. Jacobsen: Description de Conophytum marnierianum. Cactus (Paris) **11**, 92—93 (1956). — Wieland, Th., u. G. Pfleiderer: Analytische und mikropräparative Trägerelektrophorese mit höheren Spannungen. Angew. Chem. **67**, 257—260 (1955). — Wyler, H., u. A. S. Dreiding: Kristallisiertes Betanin. Helvet. chim. Acta **40**, 191—192 (1957).

Priv.-Doz. Dr. Hans Reznik, Heidelberg, Botanisches Institut der Universität

Planta, Bd. 49, S. 435—454 (1957)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Marburg a. d. Lahn

STOFFWECHSELPHYSIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN AN HYDROGENASE ENTHALTENDEN GRÜNALGEN

I. ÜBER DIE ROLLE DES MANGANS BEI PHOTOREDUKTION UND PHOTOSYNTHESE

Von

ERICH KESSLER*

Mit 16 Textabbildungen

(Eingegangen am 25. März 1957)

I. Einleitung

Die Notwendigkeit des Mangans als Spurenelement für niedere und höhere Pflanzen ist seit langem bekannt. PIRSON (1937) konnte zeigen, daß dieses Schwermetall einen sehr spezifischen Einfluß auf die Photosynthese von *Chlorella* ausübt. Bei Manganmangel werden erhebliche Photosynthesehemmungen gefunden, die reversibel sind und nach Zusatz von Mangan-Ionen in kurzer Zeit verschwinden. Die Algen sind dabei unverändert grün; eine Chlorose tritt nicht auf. Bemerkenswert ist, daß die Hemmung der Photosynthese auch im Schwachlicht vorhanden ist (PIRSON u. Mitarb. 1952, ARNON 1954).

Nachdem so die große Bedeutung des Mangans für die Photosynthese aufgezeigt war, ergab sich die Frage nach dem genauen Angriffspunkt dieses Elementes im Photosynthesemechanismus. GERRETSEN (1950) fand, daß in belichteten Chloroplastensuspensionen bei Anwesenheit von Mangan sehr große Potentialänderungen eintreten, die auf eine Bildung von H_2O_2 oder anderen Peroxyden hindeuten. Er nahm deshalb eine Rolle des Mangans bei der photosynthetischen Sauerstoffentwicklung an. PIRSON u. Mitarb. (1952) wiesen darauf hin, daß die Photosynthesehemmung bei Manganmangel in ihrer Unabhängigkeit von der Lichtintensität übereinstimmt mit der Wirkung von Hydroxylamin, einem Gift, welches spezifisch das Sauerstoff entwickelnde System der Photosynthese hemmt (WELLER u. FRANCK 1941, GAFFRON 1942a). Auch PIRSON u. Mitarb. (1952) hielten daher eine Rolle des Mangans bei der photosynthetischen Sauerstoffproduktion für möglich. Demgegenüber

* Diese Untersuchungen wurden ausgeführt in den Research Institutes (Fels Fund) der University of Chicago. Mein besonderer Dank gebührt Herrn Prof. Dr. H. GAFFRON für die freundliche Aufnahme, die ich in seinem Institut gefunden habe, und für vielfache Anregungen und Diskussionen. Für die Gewährung eines Forschungs-Stipendiums danke ich der National Academy of Sciences und der International Cooperation Administration.

vertraten ARNON (1954) und BERGMANN (1955) (vgl. auch PIRSON 1955) die Ansicht, Mangan sei an dem primären photochemischen Prozeß der Photosynthese beteiligt. Darüber hinaus fanden ALLEN u. Mitarb. (1955) eine Förderung der photosynthetischen CO_2-Bindung in isolierten Chloroplasten durch Zusatz von Mangan und Ascorbinsäure, ein Befund, der auch eine Mitwirkung dieses Elementes bei der CO_2-Reduktion denkbar erscheinen läßt.

Nachdem somit alle Möglichkeiten für den Angriffspunkt des Mangans im Photosynthesemechanismus in der Literatur diskutiert worden waren, galt es, dieses Problem durch neue Versuche zu klären. Der Ausgangspunkt unserer Untersuchungen ergab sich aus der Entdeckung GAFFRONS (1940, 1944), daß einige Algen nach Adaptation im Dunkeln an Wasserstoff die Fähigkeit zur „Photoreduktion" besitzen. Bei diesem Spezialfall der Photosynthese ist die normale Sauerstoffentwicklung ersetzt durch eine Absorption von Wasserstoff nach der Gleichung:

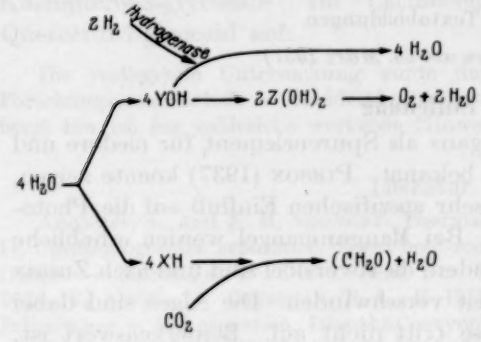

Abb. 1

$$CO_2 + 4H_2O + 2H_2 \xrightarrow{\text{Licht}} (CH_2O) + 5H_2O$$

Diese Reaktion ist auf den Bereich niederer Lichtintensitäten beschränkt; oberhalb von etwa 500 Lux tritt Deadaptation der Hydrogenase und Übergang zu normaler Photosynthese mit Entwicklung von Sauerstoff ein:

$$CO_2 + 4H_2O \xrightarrow{\text{Licht}} (CH_2O) + 3H_2O + O_2$$

Das Phänomen der Photoreduktion wurde dahingehend gedeutet, daß in Algen, welche das Enzym Hydrogenase enthalten, nach anaerober Inkubation eine Vorstufe des photosynthetischen Sauerstoffs („YOH") mit dem durch Hydrogenase aktivierten Wasserstoff unter Bildung von Wasser reagiert (Abb. 1). Das Sauerstoff entwickelnde System der Photosynthese wird in diesem Fall umgangen, während bezüglich des photochemischen Primärprozesses und der CO_2-Reduktion wahrscheinlich keine Unterschiede zwischen Photosynthese und Photoreduktion bestehen. Es folgt daraus, daß alle Faktoren, die spezifisch die zur Sauerstoffentwicklung führenden Prozesse der Photosynthese angreifen, die Photoreduktion nicht beeinflussen. Darüber hinaus verhindern solche Hemmstoffe die oxydative Deadaptation der Hydrogenase durch photosynthetische Peroxyde [$Z(OH)_2$ in Abb. 1] oder Sauerstoff bei höherer

Lichtintensität und den damit verbundenen Übergang der Photoreduktion zu normaler Photosynthese. Dies trifft zu für die Gifte Hydroxylamin, o-Phenanthrolin und Phthiocol (GAFFRON 1942a, 1945).

Durch vergleichende Untersuchung der Wirkung von Manganmangel auf Photosynthese und Photoreduktion mußte es somit möglich sein, den Angriffspunkt des Mangans im Photosynthesemechanismus genauer zu erfassen und insbesondere die Alternative: Mitwirkung beim photochemischen Primärprozeß oder im Sauerstoff entwickelnden System, zu entscheiden. Im ersten Fall würden beide Photosynthesetypen in gleicher Weise vom Manganmangel betroffen, während im zweiten Fall nur die Photosynthese, nicht aber die Photoreduktion, gehemmt wäre.

II. Methodik

Die Kultur von *Ankistrodesmus braunii* (NÄGELI) BRUNNTHALER erfolgte im Dauerlicht weißer Leuchtstoffröhren bei einer Lichtintensität von etwa 4000 Lux. Der CO_2-Gehalt der durchgeleiteten Luft war 2%, die Temperatur etwa 22° C. Die Zusammensetzung der Nährlösung findet sich bei KESSLER u. Mitarb. (1957). Zur Erreichung von Manganmangel wurde das $MnCl_2$ der Nährlösung einfach fortgelassen. Die als Verunreinigung in den übrigen Salzen vorhandenen Manganspuren ermöglichen ein stetiges, jedoch stark verlangsamtes Wachstum der Algen. Für Phosphormangel wurde $^1/_{100}$ der normalen Phosphatkonzentration (osmotischer Ausgleich durch Zusatz einer entsprechenden Menge NaCl), für Eisenmangel $^1/_{100}$ der normalen Eisenkonzentration verwendet. Im Gegensatz zu Manganmangel-Zellen sind die Algen bei Phosphor- und Eisenmangel stark chlorotisch.

Zu Stoffwechselmessungen wurden Normalkulturen im Alter von 4—6 Tagen benutzt. Bei den langsam wachsenden Mangelalgen wurde dagegen die Kulturdauer variiert zur Erzielung verschieden stark ausgeprägter Mangelzustände. Zur Untersuchung der Photoreduktion wurden die Algen in m/50 Phosphatpuffer (p_H 6,5) suspendiert; nur bei Phosphormangel verblieben sie in der alten Nährlösung, deren p_H-Wert dann etwa 7,5 war. Die Messung der Photosynthese erfolgte im allgemeinen der Einfachheit halber im Warburg-Puffer Nr. 9, obwohl unter diesen Bedingungen nicht die maximale photosynthetische Leistung erreicht wird (vgl. PIRSON u. Mitarb. 1952).

Die zur manometrischen Stoffwechselmessung benutzten Gefäße waren rechteckig mit doppelter seitlicher Ansatzbirne. Ihr Volumen betrug etwa 19 ml. Die Gefäßkonstante für H_2 bzw. O_2 war 1,5 bei 25° C und Beschickung der Gefäße mit 2,5 ml Algensuspension. Die Schüttelfrequenz war 150 pro Minute, die Amplitude 2 cm. Die Beleuchtung des runden Warburg-Thermostaten erfolgte durch 20 in einer Glasglocke im Zentrum angebrachte röhrenförmige 40 W-Glühbirnen. Durch einen verstellbaren Widerstand („Variac") konnte die Lichtintensität variiert werden.

Für Untersuchungen der Photoreduktion wurden die Gefäße 20 min lang mit $H_2 + 4\%$ CO_2 begast. Das Gasgemisch wurde zur Befreiung von den letzten O_2-Spuren durch eine der Bombe vorgeschaltete „Deoxo"-Patrone (Firma Baker & Co., Newark, New Jersey, USA) geleitet. Diese Patronen enthalten einen bei Zimmertemperatur wirksamen Palladium-Katalysator, der keiner Regeneration bedarf. Zur Adaptation der Hydrogenase wurden die Algen dann etwa 4 Std lang im Dunkeln geschüttelt, bevor das Licht eingeschaltet wurde. Da die H_2-Aufnahme bei der Photoreduktion erst nach längerer Induktion einsetzt (anfangs werden zelleigene H-Donatoren verbraucht [GAFFRON 1940]), wurde bei der Aufnahme von

Lichtabhängigkeits-Kurven der Photoreduktion mit den Messungen erst nach 15 min Vorbelichtung (Intensität 330 Lux) begonnen. Auf diese Weise wurden Störungen durch Induktionserscheinungen vermieden.

Bei Untersuchung der Knallgasreaktion wurde nach erfolgter Adaptation eine kleine Menge Luft in die Warburg-Gefäße eingesaugt, so daß die O_2-Konzentration im Gasraum etwa 0,2 bis 0,5% betrug. — Messungen der photochemischen H_2-Entwicklung erfolgten nach 4stündiger Dunkel-Inkubation unter reinstem Stickstoff. In diesem Fall enthielten die Gefäße KOH im Einsatz-Stutzen.

III. Experimentelle Ergebnisse

1. Adaptation von Ankistrodesmus braunii an Wasserstoff

GAFFRON (1940, 1944) gibt an, daß neben dem bei seinen Arbeiten verwendeten Stamm D_3 von *Scenedesmus obliquus* auch *Ankistrodesmus (Raphidium)* spec. das Enzym Hydrogenase und damit die Fähigkeit zu einem Wasserstoff-Stoffwechsel besitzt. Bei früheren Untersuchungen mit dem Marburger Stamm von *Ankistrodesmus braunii* hatten wir beobachtet, daß im Dunkeln unter N_2-Atmosphäre ein Gas (H_2 ?) entwickelt wurde, welches nicht von KOH absorbiert wird. Es lag deshalb die Annahme nahe, daß auch *Ankistrodesmus braunii* Hydrogenase enthält. In Übereinstimmung mit GAFFRONS Befunden an *Scenedesmus* D_3 ergab sich, daß *Ankistrodesmus* nach mehrstündiger anaerober Inkubation die Fähigkeit zu folgenden Reaktionen besitzt: 1. H_2-Gärung unter N_2-Atmosphäre im Dunkeln; 2. photochemische H_2-Entwicklung unter N_2 im Licht; 3. Knallgasreaktion mit chemosynthetischer CO_2-Reduktion im Dunkeln unter einem Gasgemisch von H_2, CO_2 und etwas O_2 ($< 1\%$); 4. Photoreduktion unter $H_2 + CO_2$ im Licht.

Da *Ankistrodesmus braunii* gegenüber *Scenedesmus* D_3 die Vorzüge schnelleren Wachstums und geringerer Empfindlichkeit gegen hohe Nährsalzkonzentrationen und saure p_H-Werte besitzt, wurde für unsere Versuche stets *Ankistrodesmus* verwendet. Mitbestimmend bei dieser Wahl war auch die Tatsache, daß über den Stoffwechsel dieser Alge bei Mineralsalzmangel bereits umfangreiche Erfahrungen vorliegen (PIRSON u. Mitarb. 1952).

2. Photoreduktion bei Manganmangel

a) Einfluß der Lichtintensität. Werden Photosynthese und Photoreduktion von Normal- und Manganmangel-Kulturen von *Ankistrodesmus* bei verschiedenen Lichtintensitäten untersucht, so ergibt sich das in Abb. 2 dargestellte Bild. Die Photosynthese ist, unabhängig von der Beleuchtungsstärke, auf etwa 25% des Normalwertes herabgesetzt. Demgegenüber wird die Photoreduktion durch den Manganmangel im Bereich niederer Lichtintensitäten nicht gehemmt, sondern oft sogar ein wenig erhöht. Darüber hinaus bleibt die bei normalen Algen zwischen 500 und 1000 Lux einsetzende Deadaptation aus; die Photoreduktion steigt

weiter an und erreicht bei 2000 bis 2500 Lux außerordentlich hohe Werte. Erst dann setzt eine langsame Deadaptation ein; aber auch bei 4200 Lux ist noch nicht der Übergang zu photosynthetischer O_2-Entwicklung vollzogen (vgl. KESSLER 1955).

Sowohl bei Normal- als auch bei Manganmangel-Kulturen wurde vielfach beobachtet, daß die Lichtabhängigkeits-Kurven der Photoreduktion nicht auf den Nullpunkt weisen, sondern bei sehr geringen Lichtintensitäten einen sigmoiden Verlauf zeigen (Abb. 2). Dies entspricht den mit *Scenedesmus* D_3 gemachten Erfahrungen (RIEKE 1949).

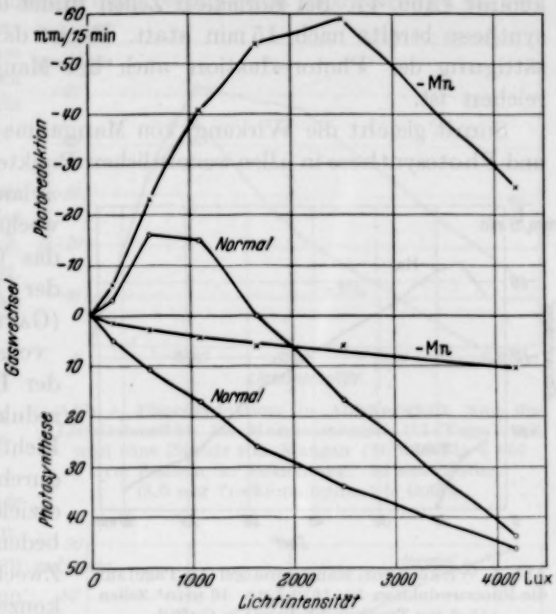

Abb. 2. Wirkung von Manganmangel (Dauer 9 Tage) auf Photoreduktion und Photosynthese von *Ankistrodesmus braunii* bei verschiedenen Lichtintensitäten. Die manometrischen Druckänderungen entsprechen der Absorption von H_2 und CO_2 bei der Photoreduktion, der Entwicklung von O_2 bei der Photosynthese (unter Berücksichtigung der Atmung). Meßzeit 15 min für jede Lichtintensität. 10 mm³ Zellen (3,0 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Wird der zeitliche Verlauf der Photoreduktion von Manganmangel-Algen bei 620 Lux, also im linearen Bereich von Abb. 2, untersucht, so zeigt sich, daß bei dieser Lichtintensität die Photoreduktion völlig stabil ist (Abb. 3). Nach anfänglicher Induktion erfolgt ein geringer Anstieg der Leistung während der ganzen Versuchszeit. Unter den gleichen Bedingungen findet man bei einer Normalkultur Deadaptation und Übergang zu photosynthetischer O_2-Entwicklung nach etwa 40 min. Bei noch geringerer Lichtintensität bleibt jedoch auch bei normalen Algen die Photoreduktion konstant. Bei 1670 Lux dagegen, im nicht mehr linearen Bereich der Abb. 2, erfolgt auch bei Manganmangel ein kontinuierlicher,

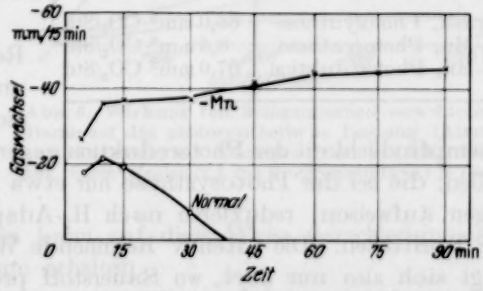

Abb. 3. Wirkung von Manganmangel (22 Tage) auf die Photoreduktion bei 620 Lux. 16 mm³ Zellen (4,8 mg Trockensubstanz) je Gefäß

durch Deadaptation bedingter Abfall der Photoreduktion, ohne daß es jedoch während der Versuchszeit noch zur Entwicklung von Sauerstoff kommt (Abb. 4). Bei normalen Zellen findet der Übergang zur Photosynthese bereits nach 15 min statt. Es ist damit klar, daß die Lichtsättigung der Photoreduktion auch bei Manganmangel nicht zu erreichen ist.

Somit gleicht die Wirkung von Manganmangel auf Photoreduktion und Photosynthese in allen wesentlichen Punkten derjenigen von Hydroxylamin und anderen Stoffwechselgiften, die spezifisch das O_2-entwickelnde System der Photosynthese hemmen (GAFFRON 1942a, 1945). Eine vollständige Unterbindung der Deadaptation der Photoreduktion auch bei höchsten Lichtintensitäten ist allerdings durch Manganmangel nicht zu erzielen. Dabei ist jedoch zu bedenken, daß die zu diesem Zweck nötigen sehr hohen Giftkonzentrationen die Photosynthese vollständig hemmen, während auch bei extremem Manganmangel die photosynthetische O_2-Entwicklung noch etwa 15% des Normalwertes beträgt.

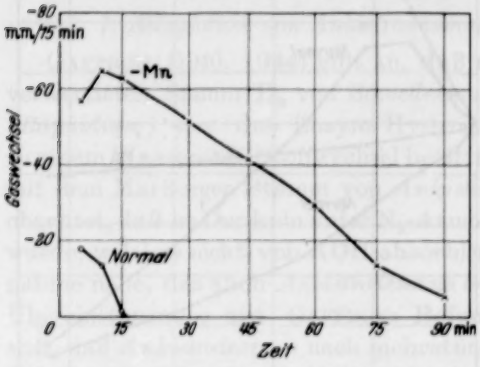

Abb. 4. Wirkung von Manganmangel (19 Tage) auf die Photoreduktion bei 1670 Lux. 16 mm³ Zellen (4,8 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Tabelle 1. *Wirkung von Manganmangel (24 Tage) auf die CO_2-Reduktion bei Photosynthese und Photoreduktion.* PO_4-Puffer, p_H 6,5. Lichtintensität 620 Lux. 8 mm³ Zellen (2,4 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Normal, Photosynthese	65,0 mm³ CO_2/Std
—Mn, Photosynthese	8,5 mm³ CO_2/Std
—Mn, Photoreduktion	67,0 mm³ CO_2/Std

Vergleicht man die CO_2-Reduktion bei Photosynthese und Photoreduktion, so zeigt sich wiederum klar die völlige Unempfindlichkeit der Photoreduktion gegen Manganmangel (Tabelle 1). Zellen, die bei der Photosynthese nur etwa 15% der Leistung normaler Algen aufweisen, reduzieren nach H_2-Adaptation ebensoviel CO_2 wie die Kontrollen. Die intensiv hemmende Wirkung des Manganmangels zeigt sich also nur dort, wo Sauerstoff produziert wird, und sie verschwindet, wenn das O_2-entwickelnde System der Photosynthese nicht benötigt wird.

Zusatz von Mangan zu Mangelkulturen steigert innerhalb kurzer Zeit die gehemmte Photosynthese auf den Normalwert (PIRSON 1937, PIRSON u. Mitarb. 1952); das gleiche gilt für die Hill-Reaktion (EYSTER u. Mitarb. 1956). Die Photoreduktion wird demgegenüber durch Zugabe

von Mangan herabgesetzt; Deadaptation und Übergang zu photosynthetischer O_2-Entwicklung werden beschleunigt (Abb. 5).

Während Pirson u. Mitarb. (1952) angeben, daß die Atmung bei Manganmangel unverändert sei, fanden wir allgemein einen verminderten respiratorischen O_2-Verbrauch (Bezugsgröße: Trockengewicht) (Tabelle 2). Dies entspricht den von Eyster u. Mitarb. (1956) an *Chlorella* gemachten Erfahrungen.

Tabelle 2. *Wirkung von Manganmangel (11 Tage) auf den respiratorischen O_2-Verbrauch.* Versuchsdauer 2 Std. KOH-Methode. 17 mm³ Zellen (5,1 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Normal	23,5 mm³ O_2
—Mn	11,5 mm³ O_2

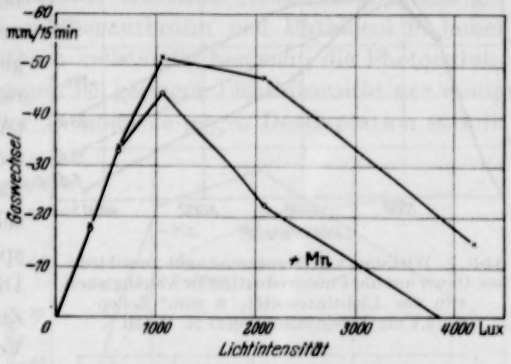

Abb. 5. Photoreduktion in Abhängigkeit von der Lichtintensität bei Manganmangel (13 Tage) mit und ohne Zusatz von Mangan (10^{-5} Mol/l) 4 Std vor Beginn der Belichtung. 12 mm³ Zellen (3,6 mg Trockensubstanz) je Gefäß

b) Einfluß der Dauer des Manganmangels. Angesichts des sehr geringen Manganbedarfs der Algen stößt eine verschiedene Dosierung des Mangans in der Nährlösung zur Erzielung verschiedener Mangelgrade auf Schwierigkeiten. Da jedoch auch im Zustand starken Manganmangels Zellteilung und Substanzproduktion nicht völlig gehemmt sind, nimmt im Laufe der Zeit in einer Mangelkultur der Mangangehalt bezogen auf die Algensubstanz ab, und man kann auf diese Weise verschieden stark ausgeprägte Mangelsymptome erhalten.

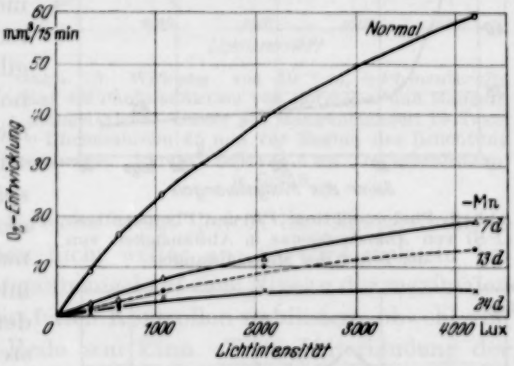

Abb. 6. Wirkung von Manganmangel verschiedener Dauer auf die photosynthetische Leistung (Atmung berücksichtigt) in Abhängigkeit von der Lichtintensität. 8 mm³ Zellen (2,4 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Untersucht man Photosynthese und Photoreduktion in Abhängigkeit von der Dauer bzw. Intensität des Manganmangels, so zeigt sich, daß bereits bei relativ kurzfristigem Mangel eine sehr starke Photosynthesehemmung auftritt, die später nicht mehr erheblich zunimmt (Abb. 6) (vgl. auch Pirson u. Mitarb. 1952). Im Falle der Photoreduktion ist

dagegen im linearen, lichtabhängigen Bereich auch bei sehr alten Kulturen kein Einfluß des Manganmangels festzustellen (Abb. 7). Der einzige Unterschied zwischen den verschiedenen Mangelgraden besteht darin, daß mit zunehmendem Alter der Schutz gegen Deadaptation bei höherer Lichtintensität zunimmt (Abb. 7). Dies ist verständlich, wenn man bedenkt, daß die Fähigkeit zu photosynthetischer O_2-Entwicklung entsprechend abnimmt (Abb. 6). Die in Abb. 8 wiedergegebene Zusammenfassung mehrerer Versuche zeigt besonders deutlich, daß einem Absturz der photosynthetischen Leistung während der ersten Woche des Manganmangels eine vollkommene Konstanz der Photoreduktion gegenübersteht. Dies gilt sogar noch für das extrem hohe Alter von 5 Wochen, wo die Photosynthese nur mehr sehr gering ist. Erst noch später setzt ziemlich abrupt ein Ausbleichen der Manganmangel-Zellen ein, verbunden mit einer starken Abnahme der Photoreduktion. Die Algen sterben dann schnell ab.

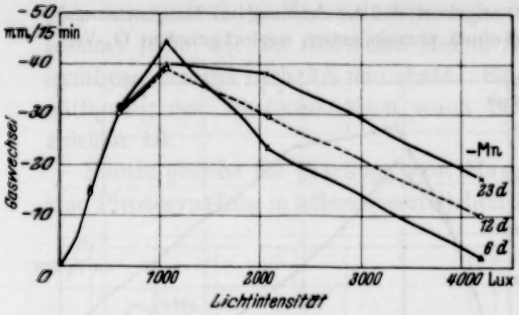

Abb. 7. Wirkung von Manganmangel verschiedener Dauer auf die Photoreduktion in Abhängigkeit von der Lichtintensität. 8 mm³ Zellen (2,4 mg Trockensubstanz) je Gefäß

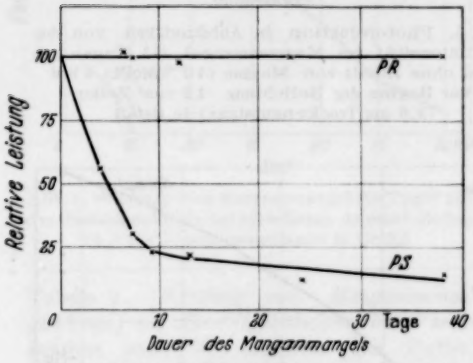

Abb. 8. Photoreduktion (*PR*) und Photosynthese (*PS*) von *Ankistrodesmus* in Abhängigkeit von der Dauer des Manganmangels

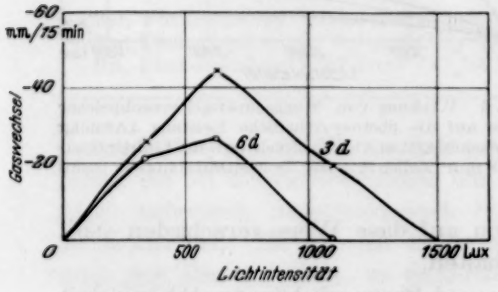

Abb. 9. Photoreduktion in Abhängigkeit von der Lichtintensität bei normalen Algen verschiedenen Alters. 18 mm³ Zellen (5,4 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Bei normalen Algen nimmt demgegenüber die Fähigkeit zur Photoreduktion, wie die zur Photosynthese, deutlich ab mit zunehmendem Alter. Die erreichbare maximale Leistung wird geringer, und die Deadaptation setzt früher ein (Abb. 9). Um so bemerkenswerter ist deshalb die Unabhängigkeit der Photoreduktion bei Manganmangel vom Alter. Zugleich bietet dieser Befund eine Erklärung für die oft beobachtete Überlegenheit der Photoreduktion von Manganmangel-Zellen gegenüber derjenigen normaler

Algen im Bereich niederer Lichtintensitäten (vgl. Abb. 2): Ganz junge, noch sehr dünne Normalkulturen erreichen bei der Photoreduktion im Schwachlicht die gleiche Leistung wie Manganmangel-Zellen (vgl. Abb. 16).

c) Wirkung von o-Phenanthrolin. GAFFRON (1942a, 1945) hatte gefunden, daß Hydroxylamin, o-Phenanthrolin und Phthiocol in hoher Konzentration die Photosynthese vollständig hemmen, die Photoreduktion von *Scenedesmus* D_3 dagegen bei geringer Lichtintensität nur wenig herabsetzen und sie bei hoher Lichtstärke gegen Deadaptation stabilisieren. Auf diese Weise gelang es, den Bereich der Lichtsättigung der Photoreduktion zu erreichen.

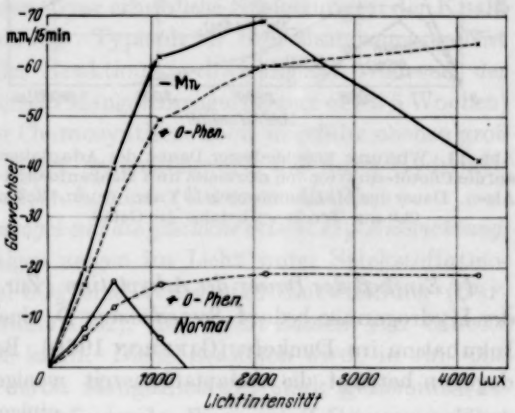

Abb. 10. Wirkung von 10^{-3} m. o-Phenanthrolin auf die Photoreduktion von normalen und Manganmangel-Algen. Dauer des Manganmangels 23 Tage. o-Phenanthrolin 45 min vor Beginn der Belichtung zugesetzt. 15 mm³ Zellen (4,5 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Versuche über die Wirkung von o-Phenanthrolin auf Normal- und Manganmangel-Kulturen von *Ankistrodesmus* führten zu dem in Abb. 10 dargestellten Ergebnis. Durch 10^{-3} m. o-Phenanthrolin wird die Deadaptation vollständig verhindert. Auch findet, entsprechend den Beobachtungen GAFFRONS, eine Herabsetzung der Leistung im linearen Bereich statt. Bemerkenswerterweise steigt jedoch die Photoreduktion bei höheren Lichtintensitäten nicht weiter an; sie wird vielmehr bei normalen Algen und bei Manganmangel auf dem Niveau der maximalen Leistung der o-Phenanthrolin-freien Kontrollen stabilisiert, obwohl von Lichtsättigung noch keine Rede sein kann. Trotz Unterbindung der Deadaptation erreichen die normalen Algen in Gegenwart von o-Phenanthrolin nicht die hohe Leistung der Manganmangel-Zellen. Hier liegen wesentliche Unterschiede vor zwischen dem Verhalten von *Ankistrodesmus braunii* und demjenigen von *Scenedesmus* D_3 (GAFFRON 1942a, 1945) sowie zwischen der Wirkung von Manganmangel und der von o-Phenanthrolin bei *Ankistrodesmus*. — Geringere Konzentrationen an o-Phenanthrolin (10^{-4} m.) wirken ähnlich, verhindern jedoch die Deadaptation nicht vollständig.

Versuche mit Hydroxylamin führten zu ganz analogen Ergebnissen, auf deren Darstellung daher verzichtet werden kann. Grundsätzlich ist jedoch zu bemerken, daß für derartige Versuche dem o-Phenanthrolin der Vorzug zu geben ist, da adaptierte Algen in der Lage sind,

Hydroxylamin mit molekularem Wasserstoff zu reduzieren (KESSLER 1956) und daher die Giftkonzentration im Verlauf des Versuches abnimmt.

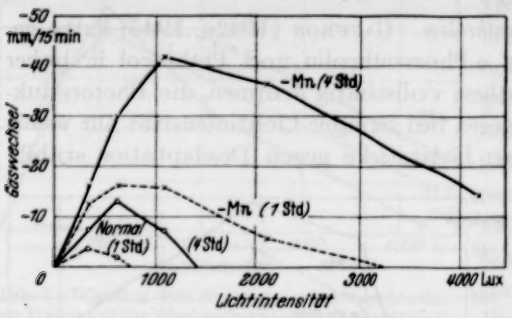

Abb. 11. Wirkung verschiedener Dauer der Adaptation auf die Photoreduktion von normalen und Manganmangel-Algen. Dauer des Manganmangels 11 Tage. 10 mm³ Zellen (3,0 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Tabelle 3. *Wirkung von Manganmangel (12 Tage) auf die photochemische H_2-Entwicklung (mm^3 H_2) in An- und Abwesenheit von Glucose (0,2%).* Versuchsdauer $1^1/_2$ Std. Gasraum N_2. KOH-Methode. Lichtintensität 3000 Lux. 18 mm³ Zellen (5,4 mg Trockensubstanz) je Gefäß

	Ohne Glucose	Mit Glucose
Normal	32	83
—Mn	9	30

d) Einfluß der Dauer der Adaptation. Zur Erreichung voller Aktivität der Hydrogenase bedarf *Scenedesmus* D_3 einer mehrstündigen anaeroben Inkubation im Dunkeln (GAFFRON 1940). Bei *Chlamydomonas moewusii* dagegen beträgt die Adaptationszeit weniger als 10 min, während bei einigen marinen Algen eine vielstündige H_2-Adaptation erforderlich ist (FRENKEL u. RIEGER 1951). Somit war es von Bedeutung, das diesbezügliche Verhalten von *Ankistrodesmus braunii* zu untersuchen, um die Experimente unter Bedingungen optimaler Adaptation ausführen zu können.

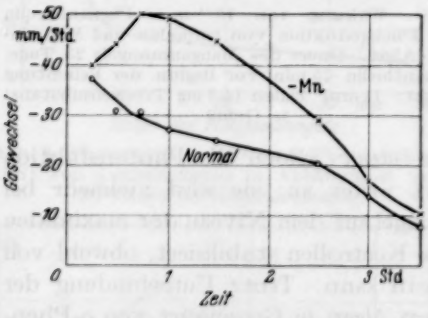

Abb. 12. Wirkung von Manganmangel (10 Tage) auf die Knallgasreaktion. Die manometrischen Druckänderungen entsprechen der Absorption von H_2, O_2 und CO_2. Der Gasraum enthielt H_2 + 4 % CO_2 + 0,3 % O_2. 11 mm³ Zellen (3,3 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Abb. 11 gibt einen Versuch wieder, bei dem die Photoreduktion nach 1stündiger und nach 4stündiger Dunkel-Inkubation gemessen wurde. Offensichtlich wird in 1 Std eine nur sehr unvollkommene Adaptation erreicht. Die Photoreduktion ist gering, und der Übergang zur Photosynthese setzt sehr bald ein. Dies gilt in gleicher Weise für normale Algen wie für Manganmangel-Zellen. Da ein weiterer Versuch mit 4- und 8stündiger Adaptation eine nur geringfügige Überlegenheit der längeren Zeit ergab, wurden alle Versuche mit 4stündiger Dunkel-Inkubation durchgeführt.

e) Wirkung von Manganmangel auf die Knallgasreaktion. Nach dem Studium der Photoreduktion bei Manganmangel war es von Interesse, den Einfluß des Mangans auch bei anderen Reaktionen H_2-adaptierter Algen zu untersuchen. Als solche ist vor allem die Knallgasreaktion von Interesse, eine Dunkelreaktion, bei der Sauerstoff als H-Acceptor für die Hydrogenase fungiert und die dabei frei werdende Energie zur chemosynthetischen Reduktion von CO_2 benutzt wird (GAFFRON 1942b).

Auch im Falle dieser Reaktion wirkt Manganmangel nicht hemmend. In mehreren Versuchen wurden sogar erhebliche Steigerungen der Knallgasreaktion beobachtet (Abb. 12). Typisch für den Manganmangel ist insbesondere der Anstieg der Reaktionsgeschwindigkeit während der ersten Stunde. Auch bei extremem Manganmangel (Dauer etwa 5 Wochen) war die Gasaufnahme bei der Chemosynthese noch ungefähr ebenso groß wie bei normalen Algen. — Es ist bemerkenswert, daß auch Hydroxylamin die Knallgasreaktion nicht hemmt (GAFFRON 1942b).

f) Wirkung von Manganmangel auf die photochemische H_2-Entwicklung. Hydrogenase enthaltende Algen zeigen im Licht unter Stickstoffatmosphäre bei Abwesenheit von CO_2 eine Wasserstoff-Entwicklung (GAFFRON u. RUBIN 1942, FRENKEL 1952), die durch Zusatz von Glucose wesentlich gesteigert werden kann. Diese Reaktion wird, in An- und Abwesenheit von Glucose, durch Manganmangel stark gehemmt (Tabelle 3). Die im Dunkeln stattfindende Wasserstoff-Gärung erfährt gleichfalls eine erhebliche Verminderung. In Tabelle 4 ist die Wirkung von Manganmangel auf verschiedene Stoffwechselprozesse bei Grünalgen zusammenfassend dargestellt.

Tabelle 4. *Wirkung von Manganmangel bei Grünalgen*

Gehemmt:
Photosynthese (PIRSON 1937)
Hill-Reaktion (EYSTER u. Mitarb. 1956)
Glucose-Assimilation im Licht (BERGMANN 1955)
Photochemische H_2-Entwicklung
H_2-Gärung im Dunkeln
Wachstum (PIRSON 1937)
Endogene Atmung (EYSTER u. Mitarb. 1956)
Aerobe Nitritreduktion im Dunkeln (KESSLER 1957b)
Reduktion von Nitrit mit H_2 (KESSLER 1957a)
Reduktion von Nitrit im Licht (KESSLER 1957b)
Nicht gehemmt:
Photoreduktion
Knallgasreaktion
Glucose-Assimilation im Dunkeln (BERGMANN 1955)
Glucose-Atmung (PIRSON u. Mitarb. 1952)
Chlorophyllbildung (PIRSON 1937)
Katalase-Aktivität (BERGMANN 1955)

3. Photoreduktion bei Phosphormangel

Um die Spezifität der Mangan-Wirkung sicherzustellen, war es wünschenswert, den Einfluß anderer Mineralsalzmängel auf die Photoreduktion zu untersuchen. Von besonderem Interesse ist in diesem Zusammenhang der Phosphormangel, da PIRSON u. Mitarb. (1952) hier ebenfalls eine sehr starke und kurzfristig reversible Hemmung der Photosynthese gefunden hatten. Die Beschränkung des Phosphormangel-Effektes auf den Bereich hoher Lichtintensitäten ließ allerdings einen anderen Wirkungsmechanismus als beim Mangan-mangel vermuten.

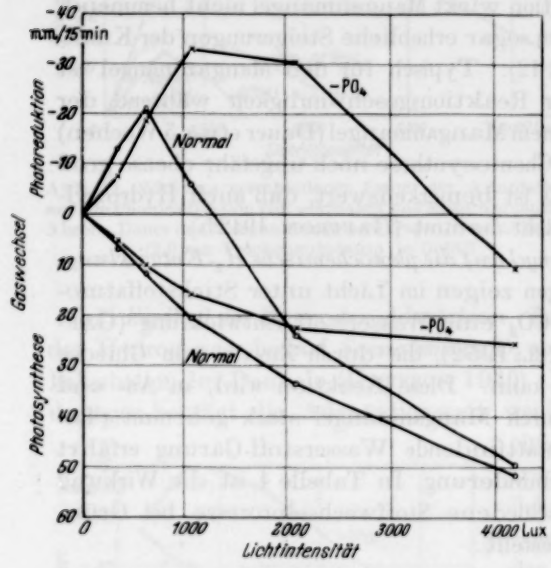

Abb. 13. Wirkung von Phosphormangel (7 Tage) auf Photoreduktion und Photosynthese (Atmung berücksichtigt) bei verschiedenen Lichtintensitäten. 16 mm³ Zellen (4,8 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Das Verhalten von Photosynthese und Photoreduktion bei Phosphormangel ergibt sich aus Abb. 13. Die photosynthetische Leistung ist vermindert, und die Hemmung nimmt stark zu mit steigender Lichtintensität. Die Photoreduktion ist gleichfalls bei niederen Beleuchtungsstärken deutlich gehemmt und steigt dann etwas über den Maximalwert der Kontrollen hinaus an, bevor die Deadaptation einsetzt. Im Gegensatz zum Manganmangel werden keine extrem hohen Werte bei der Photoreduktion erreicht, und der Übergang zur Photosynthese wird zwar verzögert, bleibt aber nicht ganz aus. Die Wirkung von Phosphormangel entspricht somit weitgehend derjenigen von 2,4-Dinitrophenol (GAFFRON 1942a).

Die photochemische H_2-Entwicklung und die H_2-Gärung im Dunkeln sind bei Phosphormangel stark herabgesetzt. — Demgegenüber beobachteten wir, in Übereinstimmung mit PIRSON u. Mitarb. (1952), erhebliche Atmungssteigerungen bei Phosphormangel-Zellen. Auch findet unter anaeroben Bedingungen eine erhöhte fermentative CO_2-Entwicklung statt.

4. Photoreduktion bei Eisenmangel

Seit eine Mitwirkung von Cytochromen bei der Photosynthese diskutiert wird (vgl. DUYSENS 1954), beansprucht auch das Eisen besondere Aufmerksamkeit. EMERSON (1929) fand bei Eisenmangel eine Photo-

synthesehemmung, deren Intensität unabhängig von der Beleuchtungsstärke war. Eine kurzfristige Reversibilität besteht in diesem Fall jedoch nicht (PIRSON u. Mitarb. 1952).

Abb. 14 gibt einen Versuch über Photosynthese und Photoreduktion bei Eisenmangel wieder. Bezüglich der Photosynthese zeigt sich, wie bei Manganmangel, eine starke Hemmung, deren Ausmaß bei allen Lichtintensitäten gleich ist. Die Photoreduktion ist in diesem Fall jedoch viel stärker betroffen als die Photosynthese. Nach nur sehr schwacher H_2-Absorption bei niederen Lichtintensitäten setzt Deadaptation und Übergang zu photosynthetischer O_2-Entwicklung ein. Ganz ähnliche Verhältnisse fand GAFFRON (1942a) bei Einwirkung von Cyanid und Kohlenmonoxyd auf die Photoreduktion. Offenbar besitzt das Hydrogenase-System eine besonders hohe Empfindlichkeit gegen diese Schwermetall-Gifte sowie gegen Eisenmangel.

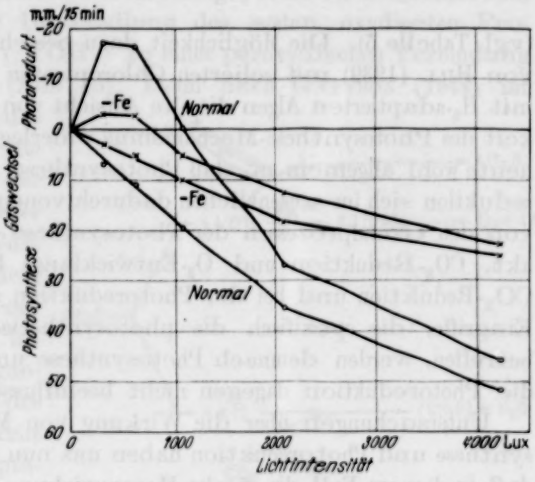

Abb. 14. Wirkung von Eisenmangel (8 Tage) auf Photoreduktion und Photosynthese (Atmung berücksichtigt) bei verschiedenen Lichtintensitäten. 10 mm³ Zellen (3,0 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Die Atmung von Eisenmangel-Zellen ist etwas erhöht, wie auch PIRSON u. Mitarb. (1952) angeben.

IV. Diskussion

Der Weg des Kohlenstoffs bei der Photosynthese konnte durch Verwendung des radioaktiven Isotops ^{14}C in den letzten Jahren von CALVIN, BENSON u. Mitarb. erfolgreich bearbeitet werden (vgl. CALVIN 1956). Das Problem der photosynthetischen Sauerstoffentwicklung ist dagegen bisher stark vernachlässigt worden, so daß über deren Mechanismus noch so gut wie nichts bekannt ist. Es liegt dies vor allem daran, daß für die Untersuchung der an der O_2-Entwicklung beteiligten Vorgänge noch keine einwandfreie und wirkungsvolle biochemische Methode zur Verfügung steht. Man ist daher auf diesem Gebiet auch heute noch auf mehr indirekte physiologische Untersuchungsmethoden angewiesen.

Mit der vorliegenden Arbeit wurde der Versuch unternommen, durch eine vergleichende Untersuchung verschiedener Photosynthese-Typen Informationen über die photosynthetische O_2-Entwicklung zu erhalten

Tabelle 5

Hemmung der	*hemmt*	*hemmt nicht*
Photochemischen Reaktion	PS, PR, Hill-Reaktion	—
O_2-Entwicklung	PS, Hill-Reaktion	PR
CO_2-Reduktion	PS, PR	Hill-Reaktion
Hydrogenase	PR	PS, Hill-Reaktion

(vgl. Tabelle 5). Die Möglichkeit dazu besteht, seit durch die Arbeiten von HILL (1939) mit isolierten Chloroplasten und von GAFFRON (1944) mit H_2-adaptierten Algen die alte Ansicht von der starren Unwandelbarkeit des Photosynthese-Mechanismus widerlegt worden ist. Man nimmt heute wohl allgemein an, daß Photosynthese, Hill-Reaktion und Photoreduktion sich im wesentlichen dadurch voneinander unterscheiden, daß von den Grundprozessen der Photosynthese (photochemischer Primärakt, CO_2-Reduktion und O_2-Entwicklung) bei der Hill-Reaktion die CO_2-Reduktion und bei der Photoreduktion die O_2-Entwicklung fehlt. Eingriffe, die spezifisch die photosynthetische Sauerstoffproduktion betreffen, werden demnach Photosynthese und Hill-Reaktion hemmen, die Photoreduktion dagegen nicht beeinflussen.

Untersuchungen über die Wirkung von Manganmangel auf Photosynthese und Photoreduktion haben uns nun zu dem Ergebnis geführt, daß in diesem Fall die starke Hemmwirkung allein die Photosynthese[1] betrifft, während die Photoreduktion im Bereich niederer Lichtintensitäten nicht beeinflußt und bei höherer Beleuchtungsstärke gegen die oxydative Deadaptation der Hydrogenase geschützt wird. Dies gilt auch dann noch, wenn nach 5 Wochen dauerndem Manganmangel die photosynthetische Leistung der Algen etwa 15% des Normalwertes beträgt und die Reversibilität der Photosynthesehemmung nur noch sehr gering ist. Es geht daraus klar hervor, daß das Spurenelement Mangan spezifisch am Teilprozeß der Sauerstoff-Entwicklung beteiligt ist. Die Möglichkeit einer Mitwirkung beim photochemischen Primärakt, wie sie von ARNON (1954) und BERGMANN (1955) diskutiert wurde, scheidet angesichts unserer Befunde aus; denn in diesem Fall müßten Photosynthese und Photoreduktion in gleicher Weise gehemmt werden. Über eine mögliche *zusätzliche* Beteiligung des Mangans an der CO_2-Reduktion erlauben unsere Versuche dagegen keine Aussage. Eine solche Wirkung würde sich vorwiegend bei hoher Lichtstärke bemerkbar machen, in einem Bereich, der bei der Photoreduktion auch mit Manganmangel nicht erreicht werden kann. Zugunsten einer solchen Annahme sprechen jedoch die Befunde von ALLEN u. Mitarb. (1955), daß die CO_2-Reduktion in isolierten Chloroplasten durch Mangan (in Gegenwart von Ascorbin-

[1] Andere mit einer Entwicklung von Sauerstoff verbundene photosynthetische Reaktionen, wie die Mehler-Reaktion (MEHLER 1951) und die Hill-Reaktion (EYSTER u. Mitarb. 1956), benötigen ebenfalls Mangan.

säure) gesteigert wird. Darüber hinaus haben biochemische Untersuchungen gezeigt, daß für die Aktivität einiger carboxylierender Enzyme, z. B. des „malic enzyme", Mangan erforderlich ist (vgl. VENNESLAND u. CONN 1952).

Was den genauen Ort der Manganwirkung innerhalb der zur Sauerstoffentwicklung führenden Prozesse anbelangt, so ist es wahrscheinlich, daß das Mangan an der Umwandlung des ersten oxydierten Produktes der Photosynthese („YOH") zu einer peroxydischen Verbindung [„$Z(OH)_2$"] beteiligt ist (Abb. 15). Denn nach GAFFRON (1944) ist es dieses Photoperoxyd, das neben freiem Sauerstoff die oxydative Deadaptation der Hydrogenase bei höherer Lichtintensität bewirkt. Wäre das Mangan dagegen an dem letzten Reaktionsschritt, der Abspaltung des freien O_2, beteiligt, so müßte bei Mangan-mangel eine Anhäufung des Peroxyds $Z(OH)_2$ und damit eine beschleunigte Deadaptation stattfinden. Darüber hinaus sei betont, daß auch die Befunde von KENTEN u. MANN (1955) und insbesondere von GERRETSEN (1950) auf eine Mitwirkung des Mangans bei der Bildung von Peroxyden hinweisen. Ob das Mangan dabei fest in die Wirkgruppe eines Enzyms eingebaut oder aber als freies Ion an der Reaktion beteiligt ist, kann auf Grund unserer Versuche nicht entschieden werden. Die bei nicht allzu starkem Mangel sehr schnelle Reversibilität der Photosynthesehemmung nach Zusatz von Mangan (PIRSON 1937, PIRSON u. Mitarb. 1952) sowie die momentane Manganwirkung in GERRETSENS Versuchen sprechen eher zugunsten des freien Ions. Jedoch sei betont, daß nach starkem, lang andauerndem Manganmangel die Photosynthesehemmung nur noch sehr langsam (im Verlauf von 12 bis 24 Std) reversibel ist. Vielleicht kann man daraus schließen, daß unter diesen Bedingungen auch die Synthese der Protein-Komponente des betreffenden Enzyms vom Manganmangel betroffen wird, ähnlich wie dies für die Nitratreduktase von *Neurospora* bei Molybdänmangel nachgewiesen wurde (NASON 1956).

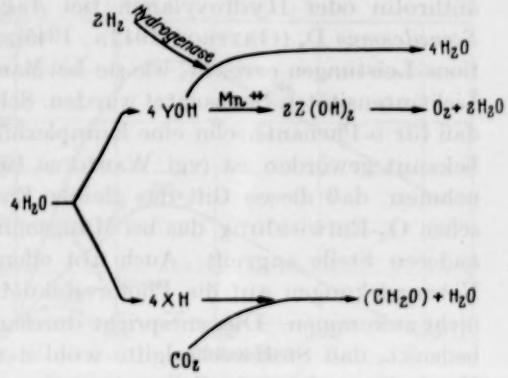

Abb. 15

Unsere Untersuchungen über die Wirkung von Manganmangel auf Photosynthese und Photoreduktion sowie auf Fluorescenz und verzögerte Lichtemission des Chlorophylls (KESSLER u. Mitarb. 1957) haben gezeigt, daß hier ein Fall vorliegt, wo ein Ionenmangel in allen wesentlichen Punkten mit der Wirkung bekannter Stoffwechselgifte (Hydroxylamin, o-Phenanthrolin und Phthiocol) übereinstimmt (GAFFRON 1942a,

1945). Demgegenüber muß aber auch auf gewisse Unterschiede hingewiesen werden, die zwischen der Wirkung des Manganmangels und derjenigen der genannten Gifte bestehen. So verhindern die Hemmstoffe, *vor* der anaeroben Inkubation zugesetzt, die Adaptation der Hydrogenase (Gaffron 1942a, 1945); dies ist jedoch bei Manganmangel nicht der Fall. Auch eine Verminderung der Leistung der Photoreduktion im Schwachlicht, entsprechend einer Verschlechterung der Quantenausbeute, wie sie bei Verwendung von Giften beobachtet wurde, findet bei Manganmangel nicht statt. Weiterhin werden nach Zusatz von o-Phenanthrolin oder Hydroxylamin bei *Ankistrodesmus*, im Gegensatz zu *Scenedesmus* D_3 (Gaffron 1942a, 1945), nicht jene großen Photoreduktions-Leistungen erreicht, wie sie bei Manganmangel im Bereich höherer Lichtintensitäten beobachtet wurden. Schließlich muß vermerkt werden, daß für o-Phenanthrolin eine Komplexbildung mit Mangan bisher nicht bekannt geworden ist (vgl. Warburg 1948)[1]. Man hat also wohl anzunehmen, daß dieses Gift das gleiche Enzymsystem der photosynthetischen O_2-Entwicklung, das bei Manganmangel inaktiviert wird, an einer anderen Stelle angreift. Auch übt offenbar das o-Phenanthrolin noch Nebenwirkungen auf die Photoreduktion aus, die dem Manganmangel nicht zukommen. Dies entspricht durchaus den Erwartungen, wenn man bedenkt, daß Stoffwechselgifte wohl stets an mehreren Stellen in den Metabolismus lebender Zellen eingreifen und daß z. B. das o-Phenanthrolin mit einer ganzen Anzahl biologisch wichtiger zweiwertiger Schwermetalle (Fe, Zn, Cu, Co) zu reagieren vermag, von denen zumindest dem Eisen auch eine wesentliche Rolle bei Photosynthese und Photoreduktion zukommt. Angesichts dieser Überlegungen ist die größere Wirkungsspezifität des Manganmangels im Vergleich zu den Stoffwechselgiften nicht überraschend.

Ein weiteres Problem ergibt sich aus der Unabhängigkeit der Manganwirkung von der Lichtintensität. Diese Erscheinung, oftmals als typisch allein für die Hemmung des photochemischen Primäraktes der Photosynthese (z. B. durch Narkotica) angesehen, ist charakteristisch auch für alle diejenigen Fälle, in denen spezifisch das Sauerstoff entwickelnde System angegriffen wird, nämlich bei Manganmangel und bei Vergiftung mit Hydroxylamin (Weller u. Franck 1941), o-Phenanthrolin, Schwefelwasserstoff und Stickstoffwasserstoffsäure (Damaschke u. Rothbühr 1955). Diese bei der Hemmung eines enzymatischen Vorgangs zunächst überraschende Tatsache kann auf verschiedene Weise interpretiert werden. Weller u. Franck (1941) nehmen an, daß das Enzymsystem der O_2-Entwicklung einer Licht-Aktivierung bedarf und daher seine Aktivität

[1] Schwartz (1956) gibt jedoch an, daß die o-Phenanthrolin-Hemmung der Hill-Reaktion auch durch Zusatz von Mangan aufgehoben werden kann. Angesichts dieses Befundes muß man auch mit der Möglichkeit einer direkten Ausschaltung des Mangans im Sauerstoff entwickelnden System der Photosynthese bei Vergiftung mit o-Phenanthrolin rechnen.

proportional der Lichtintensität ist. DAMASCHKE u. ROTHBÜHR (1955) rechnen mit einer direkten Kopplung zwischen Lichtreaktion und Sauerstoffentwicklung. Eine weitere Deutungsmöglichkeit ergibt sich aus FRANCKS Ansicht, daß das erste oxydierte Produkt der Photosynthese („YOH") ein stark fluoreszierendes Derivat des Chlorophylls ist, dessen Anhäufung den photochemischen Primärprozeß und damit die Photosynthese bei allen Lichtintensitäten hemmt (als „natural narcotic", vgl. SHIAU u. FRANCK 1947). Mit einer solchen Anhäufung von YOH hat man aber gerade dann zu rechnen, wenn das Sauerstoff entwickelnde System gehemmt ist und — bei nicht H_2-adaptierten Algen — auch keine Möglichkeit zur Beseitigung des YOH mit Hilfe von Wasserstoff besteht (vgl. Abb. 15). Im Einklang mit dieser Deutung steht die bei Manganmangel beobachtete starke Erhöhung der Fluorescenz sowie die Hemmung der Photosynthese und anderer mit ihr eng verknüpfter Prozesse (verzögerte Lichtemission des Chlorophylls: KESSLER u. Mitarb. 1957; Glucose-Assimilation im Licht: BERGMANN 1955). — Nachdrücklich muß jedenfalls betont werden, daß die Lichtintensitäts-Unabhängigkeit der Photosynthesehemmung *allein* als Kriterium für eine Beeinflussung des photochemischen Primäraktes nicht ausreicht. Die Entscheidung, ob eine Hemmung der photochemischen Reaktion oder der Sauerstoffentwicklung vorliegt, kann nur auf Grund einer vergleichenden Untersuchung von Photoreduktion und Photosynthese getroffen werden.

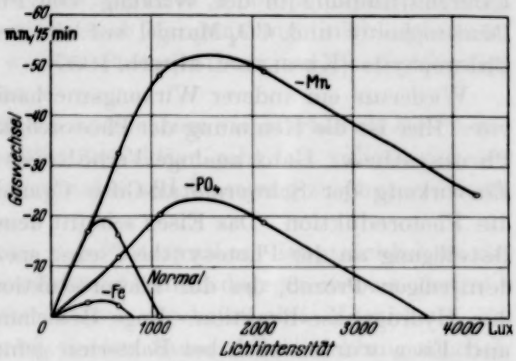

Abb. 16. Wirkung von Mangan- (16 Tage), Phosphor- (7 Tage) und Eisenmangel (8 Tage) auf die Photoreduktion von *Ankistrodesmus*. 10 mm³ Zellen (3,0 mg Trockensubstanz) je Gefäß

Ganz anders als beim Manganmangel liegen die Verhältnisse bei Phosphor- und bei Eisenmangel. Dies geht besonders deutlich aus den in Abb. 16 und Tabelle 6 dargestellten vergleichenden Versuchen hervor.

Tabelle 6. *Wirkung von Mangan-, Phosphor- und Eisenmangel auf die Photosynthese von Ankistrodesmus bei verschiedenen Lichtintensitäten (photosynthetische Leistung in Prozenten der Kontrollen)*

	330 Lux	620 Lux	1080 Lux	2100 Lux	4200 Lux
—Mn (9 Tage) . .	24	24	25	21	23
—PO_4 (8 Tage) . .	65	65	55	45	30
—Fe (12 Tage) . .	35	36	37	36	34

Bei Phosphormangel haben wir einen Fall, wo Photosynthese und Photoreduktion gleichermaßen gehemmt werden, ähnlich wie dies GAFFRON

(1942a) bei Einwirkung von 2,4-Dinitrophenol beobachtete. Man muß daraus schließen, daß das Phosphat für einen Teilvorgang notwendig ist, der Photoreduktion und Photosynthese gemeinsam zukommt. Der Befund, daß in diesem Fall die Photosynthesehemmung zunimmt mit steigender Lichtintensität, zeigt jedoch, daß nicht der photochemische Prozeß, sondern offenbar die CO_2-Reduktion betroffen ist. Für eine solche Annahme, im Sinne einer Beteiligung des Phosphates am Calvin-Benson-Cyclus, sprechen auch zahlreiche Befunde anderer Autoren, die von ARNON (1956) ausführlich dargestellt worden sind. Besonders hingewiesen sei noch in diesem Zusammenhang auf die weitgehende Übereinstimmung in der Wirkung von Phosphormangel, Zusatz von Dinitrophenol und CO_2-Mangel auf die verzögerte Lichtemission des Chlorophylls (KESSLER u. Mitarb. 1957).

Wiederum ein anderer Wirkungsmechanismus liegt bei Eisenmangel vor. Hier ist die Hemmung der Photoreduktion viel stärker als die der Photosynthese. Ganz analoge Verhältnisse fand GAFFRON (1942a) bei Einwirkung der Schwermetall-Gifte Cyanid und Kohlenmonoxyd auf die Photoreduktion. Das Eisen scheint demnach, abgesehen von seiner Beteiligung an der Photosynthese, eine spezifische Rolle zu spielen bei demjenigen Prozeß, der der Photoreduktion allein zukommt, nämlich der Hydrogenase-Reaktion. Enge Beziehungen zwischen Hydrogenase und Eisen wurden auch bei Bakterien gefunden. Jedoch besteht noch keine Klarheit, ob die Hydrogenase selbst Eisen enthält (vgl. PECK, SAN PIETRO u. GEST 1956), oder ob Eisen nur für die Spaltung eines inaktiven O_2-Hydrogenase-Komplexes notwendig ist (ATKINSON 1956). — Bezüglich der Photosynthese läßt die Unabhängigkeit der Eisenmangel-Wirkung von der Lichtintensität vermuten, daß das Eisen entweder an der photochemischen Reaktion oder an der Sauerstoffentwicklung beteiligt ist. Diese Frage kann angesichts der Sonderwirkung des Eisens auf das Hydrogenase-System nicht entschieden werden. Jedoch erscheint im Hinblick auf eine mögliche Beteiligung von Cytochromen an der photosynthetischen Sauerstoffentwicklung (vgl. DUYSENS 1954) eine Rolle des Eisens bei diesem Teilvorgang als wahrscheinlicher.

Zusammenfassung

1. Im Gegensatz zur Photosynthese wird die Photoreduktion, ein Spezialtyp der Photosynthese ohne Sauerstoff-Entwicklung bei Hydrogenase enthaltenden Algen, durch Manganmangel nicht gehemmt. Auch bei 5 Wochen alten Manganmangel-Zellen von *Ankistrodesmus braunii*, deren photosynthetische Leistung nur noch etwa 15% des Normalwertes beträgt, ist die Photoreduktion unvermindert.

2. Darüber hinaus wird die Photoreduktion durch Manganmangel gegen die sonst bei höheren Lichtintensitäten eintretende Deadaptation (Übergang zu normaler Photosynthese mit Entwicklung von Sauerstoff)

geschützt. Die Photoreduktion normaler Algen erreicht ihr Maximum bei etwa 500 Lux; bei Manganmangel steigt sie dagegen bis etwa 2000 Lux an, und erst dann setzt eine langsame Deadaptation ein.

3. Zusatz von Mangan zu Mangelzellen, der die Photosynthese in kurzer Zeit steigert, vermindert die Photoreduktion und beschleunigt die Deadaptation.

4. Aus diesen Ergebnissen folgt, daß die Wirkung des Mangans im Photosynthesemechanismus spezifisch das Sauerstoff entwickelnde System betrifft, das bei der Photoreduktion nicht benötigt wird. Wahrscheinlich ist das Mangan an der Bildung eines „Photoperoxyds" beteiligt.

5. Die Knallgasreaktion wird durch Manganmangel nicht gehemmt.

6. Bei Phosphormangel werden Photosynthese und Photoreduktion in gleicher Weise vermindert.

7. Eisenmangel hemmt die Photoreduktion viel stärker als die Photosynthese. Die Fähigkeit zur Photoreduktion geht fast vollständig verloren; es erfolgt schnelle Deadaptation und Übergang zu photosynthetischer Sauerstoffentwicklung.

8. Phosphat ist offenbar bei der Photosynthese hauptsächlich an der CO_2-Reduktion beteiligt. Eisenmangel hemmt dagegen insbesondere das Hydrogenase-System; darüber hinaus erscheint eine Mitwirkung des Eisens auch bei der photosynthetischen Sauerstoffentwicklung möglich.

Literatur

ALLEN, M. B., D. I. ARNON, J. B. CAPINDALE, F. R. WHATLEY and L. J. DURHAM: Photosynthesis by isolated chloroplasts. III. Evidence for complete photosynthesis. J. Amer. Chem. Soc. **77**, 4149—4155 (1955). — ARNON, D. I.: Some recent advances in the study of essential micronutrients for green plants. VIII. Congr. Int. Bot., Paris, Sekt. 11, S. 73—80. 1954. — Phosphorus metabolism and photosynthesis. Annual Rev. Plant Physiol. **7**, 325—354 (1956). — ATKINSON, D. E.: The biochemistry of *Hydrogenomonas*. IV. The inhibition of hydrogenase by oxygen. J. of Biol. Chem. **218**, 557—564 (1956). — BERGMANN, L.: Stoffwechsel und Mineralsalzernährung einzelliger Grünalgen. II. Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß mineralischer Faktoren bei heterotropher und mixotropher Ernährung. Flora (Jena) **142**, 493—539 (1955). — CALVIN, M.: Der Photosynthese-Cyclus. Angew. Chem. **68**, 253—264 (1956). — DAMASCHKE, K., u. L. ROTHBÜHR: Die langsamste Dunkelreaktion der Photosynthese und der Einfluß von Giften auf diese, verfolgt durch elektrochemische Sauerstoffmessung. Biochem Z. **327**, 39—61 (1955). — DUYSENS, L. N. M.: Reversible changes in the absorption spectrum of *Chlorella* upon irradiation. Science (Lancaster, Pa.) **120**, 353—354 (1954). — EMERSON, R.: Photosynthesis as a function of light intensity and of temperature with different concentrations of chlorophyll. J. Gen. Physiol. **12**, 623—639 (1929). — EYSTER, C., T. E. BROWN and H. A. TANNER: Manganese requirement with respect to respiration and the Hill reaction in *Chlorella pyrenoidosa*. Arch. of Biochem. a. Biophysics **64**, 240—241 (1956). — FRENKEL, A. W.: Hydrogen evolution by the flagellate green alga, *Chlamydomonas moewusii*. Arch. of Biochem. a. Biophysics **38**, 219—230 (1952). — FRENKEL, A. W., and C. RIEGER: Photoreduction in algae. Nature (Lond.) **167**, 1030 (1951). — GAFFRON, H.: Carbon dioxide reduction with molecular hydrogen in green algae.

Amer. J. Bot. **27**, 273—283 (1940). — The effect of specific poisons upon the photoreduction with hydrogen in green algae. J. Gen. Physiol. **26**, 195—217 (1942a). — Reduction of carbon dioxide coupled with the oxyhydrogen reaction in algae. J. Gen. Physiol. **26**, 241—267 (1942b). — Photosynthesis, photoreduction and dark reduction of carbon dioxide in certain algae. Biol. Rev. Cambridge Philos. Soc. **19**, 1—20 (1944). — o-Phenanthroline and derivatives of vitamin K as stabilizers of photoreduction in *Scenedesmus*. J. Gen. Physiol. **28**, 269—285 (1945). — Gaffron, H., and J. Rubin: Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. J. Gen. Physiol. **26**, 219—240 (1942). — Gerretsen, F. C.: Manganese in relation to photosynthesis. II. Redox potentials of illuminated crude chloroplast suspensions. Plant a. Soil **2**, 159—193 (1950). — Hill, R.: Oxygen produced by isolated chloroplasts. Proc. Roy. Soc. Lond., Ser. B **127**, 192—210 (1939). — Kenten, R. H., and P. J. G. Mann: The oxidation of manganese by illuminated chloroplast preparations. Biochemic. J. **61**, 279—286 (1955). — Kessler, E.: On the role of manganese in the oxygen-evolving system of photosynthesis. Arch. of Biochem. a. Biophysics **59**, 527—529 (1955). — Reduction of nitrite with molecular hydrogen in algae containing hydrogenase. Arch. of Biochem. a. Biophysics **62**, 241—242 (1956). — Stoffwechselphysiologische Untersuchungen an Hydrogenase enthaltenden Grünalgen. II. Dunkel-Reduktion von Nitrat und Nitrit mit molekularem Wasserstoff. Arch. Mikrobiol. (im Druck). — Untersuchungen zum Problem der photochemischen Nitratreduktion in Grünalgen. Planta (im Druck). — Kessler, E., W. Arthur and J. E. Brugger: The influence of manganese and phosphate on delayed light emission, fluorescence, photoreduction and photosynthesis in algae. Arch. of Biochem. a. Biophysics (im Druck). — Mehler, A. H.: Studies on reactions of illuminated chloroplasts. II. Stimulation and inhibition of the reaction with molecular oxygen. Arch. of Biochem. a. Biophysics **34**, 339—351 (1951). — Nason, A.: Enzymatic steps in the assimilation of nitrate and nitrite in fungi and green plants. p. 109—136 in: Inorganic Nitrogen Metabolism. Baltimore 1956. — Peck, H. D., A. San Pietro and H. Gest: On the mechanism of hydrogenase action. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. **42**, 13—19 (1956). — Pirson, A.: Ernährungs- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an *Fontinalis* und *Chlorella*. Z. Bot. **31**, 193—267 (1937). — Functional aspects in mineral nutrition of green plants. Annual Rev. Plant Physiol. **6**, 71—114 (1955). — Pirson, A., C. Tichy u. G. Wilhelmi: Stoffwechsel und Mineralsalzernährung einzelliger Grünalgen. I. Vergleichende Untersuchungen an Mangelkulturen von *Ankistrodesmus*. Planta (Berl.) **40**, 199—253 (1952). — Rieke, F. F.: Quantum efficiencies for photosynthesis and photoreduction in green plants. p. 251—272 in: Photosynthesis in Plants. Ames (Iowa) 1949. — Schwartz, M.: The photochemical reduction of quinone and ferricyanide by lyophilized *Chlorella* cells. Biochim. et Biophysica Acta **22**, 463—470 (1956). — Shiau, Y. G., and J. Franck: Chlorophyll fluorescence and photosynthesis in algae, leaves and chloroplasts. Arch. of Biochem. **14**, 253—295 (1947). — Vennesland, B., and E. E. Conn: Carboxylating enzymes in plants. Annual Rev. Plant Physiol. **3**, 307—332 (1952). — Warburg, O.: Schwermetalle als Wirkungsgruppen von Fermenten. Berlin: Dr. W. Saenger 1948. — Weller, S., and J. Franck: Photosynthesis in flashing light. J. Phys. Chem. **45**, 1359—1373 (1941).

Dr. Erich Kessler, Marburg a. d. Lahn,
Botanisches Institut der Universität, Pilgrimstein 4

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u. a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Vorlesungen über Entwicklungsphysiologie

Von Professor Dr. **Alfred Kühn**, Tübingen. Mit 477 Textabbildungen. IX, 506 Seiten Gr.-8°. 1955. Ganzleinen DM 43.60

Aus den Besprechungen: ... Die lebendige Darstellung vermeidet jede Schematisierung. Dem Leser wird Tatsachenmaterial in großer Fülle vorgelegt; die Mannigfaltigkeit der deskriptiven und experimentellen Tatsachen ist gemeistert durch die induktive und systematisierende Herausarbeitung der typischen Vorgänge und der Funktionstypen. Nahezu 500 in einheitlicher Manier hergestellte Abbildungen erläutern den Text und zeigen in eindringlicher Weise, daß Wirkungen in der Entwicklung Gestaltungen sind. Die Liebe und Begeisterung des Autors haben ein faszinierendes Werk entstehen lassen, das jeden an der Biologie Interessierten durch Inhalt und Form, durch Auswahl und Formulierung, durch Herausarbeitung des Gesicherten und der Probleme fesseln muß und manchen verführen wird, sich diesem — wie der Verfasser sagt — charakteristischsten Zweig der modernen Biologie zuzuwenden.

Professor H. Autrum, Würzburg, in „Berichte über die gesamte Biologie, Abt. B: Physiologie".

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Das griffbereite Nachschlagewerk im biochemischen Labor

Biochemisches Taschenbuch

Herausgegeben von Dr. **H. M. Rauen,** Privatdozent an der Universität Münster in Westf. Mit einem Geleitwort von Professor Dr. Richard Kuhn, Heidelberg. Mit 352 Abbildungen. XVI, 1332 Seiten 8°. 1956. Ganzleinen DM 69.—

Mitarbeiter: R. Abderhalden — H. Aebi — H. H. Baer — S. Beckmann — M. Behrens — B. Berde — K. Bernhauer — H. Bramsel — R. Bütler — H. D. Cremer — H. Debuch — H. Dengler — E. Dietzel — F. Duspiva — A. Ebert — W. Esselborn — E. Fischer — W. Friedrich — H. Fritz — P. Gedigk — W. Gesierich — W. Grab — A. Grüne — K. Hannig — H. Holzer — L. Jaenicke — R. Junk — V. Klingmüller — E. Kofrányi — S. Koller — F. Korte — I. Korte — H. Kraut — H. Lettré — F. Lindner — G. Matz — H.-G. Meyer-Brunot — L. Meyer-Schützmeister — E. Negelein — H. Netter — K.-H. Neumann — W. Otting — D. Palm — G. Pfleiderer — H. W. Raudonat — H. M. Rauen — F. Reitmayer — R. Reuber — E. Rothlin — W. Rummel — J. Rutschmann — H. Schmidt — J. Schmidt-Thomé — G. Siebert — W. Siedel — R. Signer — H. Simon — G. Snatzke — H. Sontheimer — W. Stamm — Hj. Staudinger — J. Stauff — K. Traumann — O. Trösken — H. E. Voss — A. Wacker — W. Walter — H. Weil-Malherbe — E. Werle — Fr. Weygand — W. Wirths — H. Zahn — R. K. Zahn.

Inhaltsübersicht: Abkürzungen und Nomenklaturempfehlungen. — Mathematisch-physikalische Hilfsmittel. — Stoffwerte. — Räumliche Struktur der Stoffe. — Physikalische Chemie. — Radioaktivität. — Nahrung und Ernährung. — Tierversuche. — Körper- und Zellbestandteile. — Biologische Strukturen. — Biologische Funktionen. — Für das Laboratorium. — Statistische Auswertungsmethoden. — Unfallverhütung und erste Hilfe im chemischen Laboratorium. — Nachtrag. — Sachverzeichnis.

Das Biochemische Taschenbuch wendet sich nicht nur an die Biochemiker und physiologischen Chemiker im engeren Sinne, sondern auch an die Angehörigen der angrenzenden Disziplinen, wie der experimentellen Medizin, Pharmakologie, Bakteriologie, Pharmazie, Zoologie und Botanik, d. h. aller Wissensgebiete, die sich mit der lebenden Zelle beschäftigen. Tabellen, Diagramme, Abbildungen und Texte enthalten die wichtigsten Angaben über die biochemischen Stoffe und Vorgänge. Physikalische, physikalisch-chemische und mathematisch-statistische Fragestellungen sind entsprechend ihrer besonderen Bedeutung in der modernen Biochemie berücksichtigt, und zahlreiche Zitate weisen den Zugang zu Originalliteratur oder monographischen Darstellungen.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany